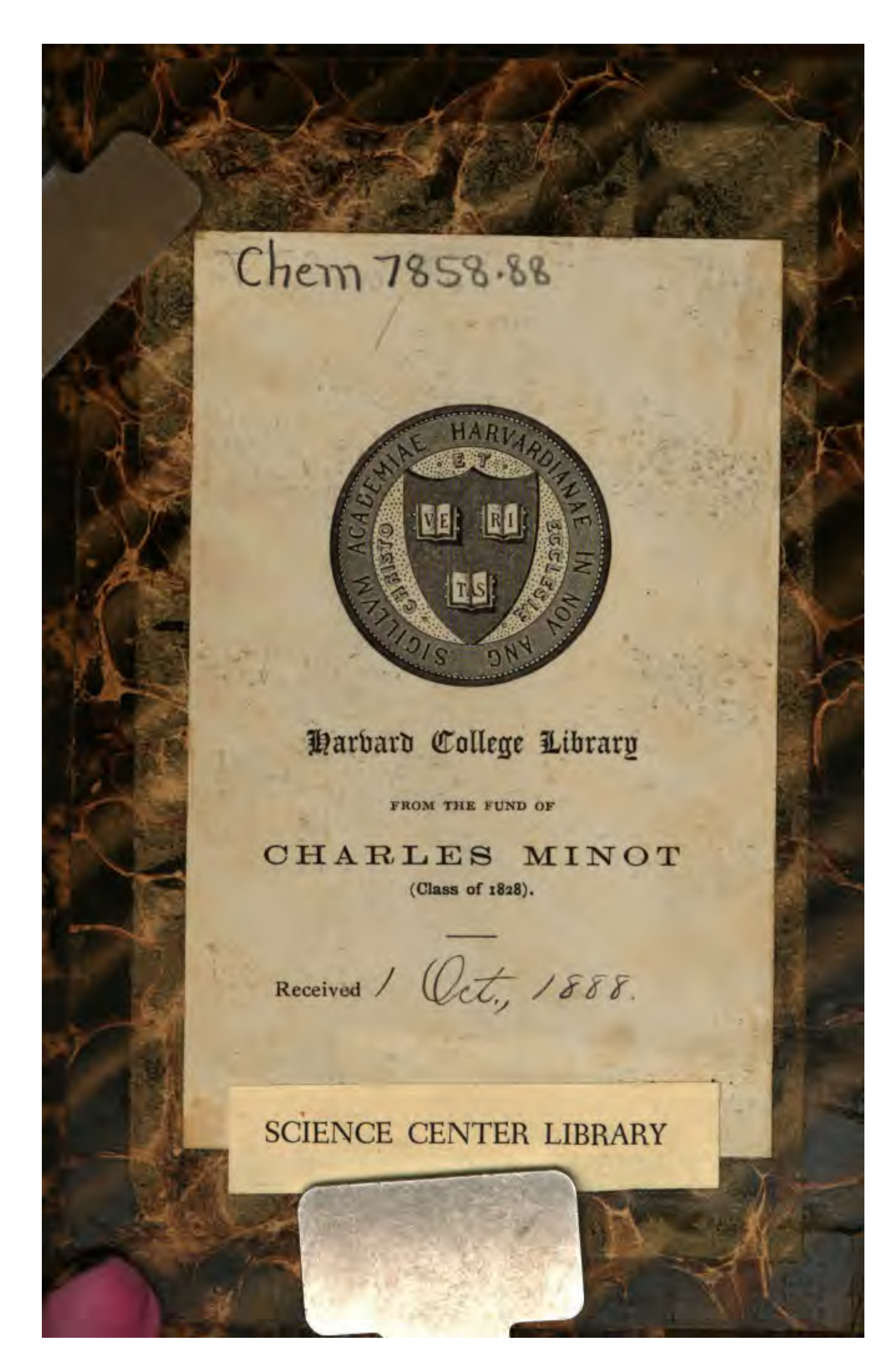
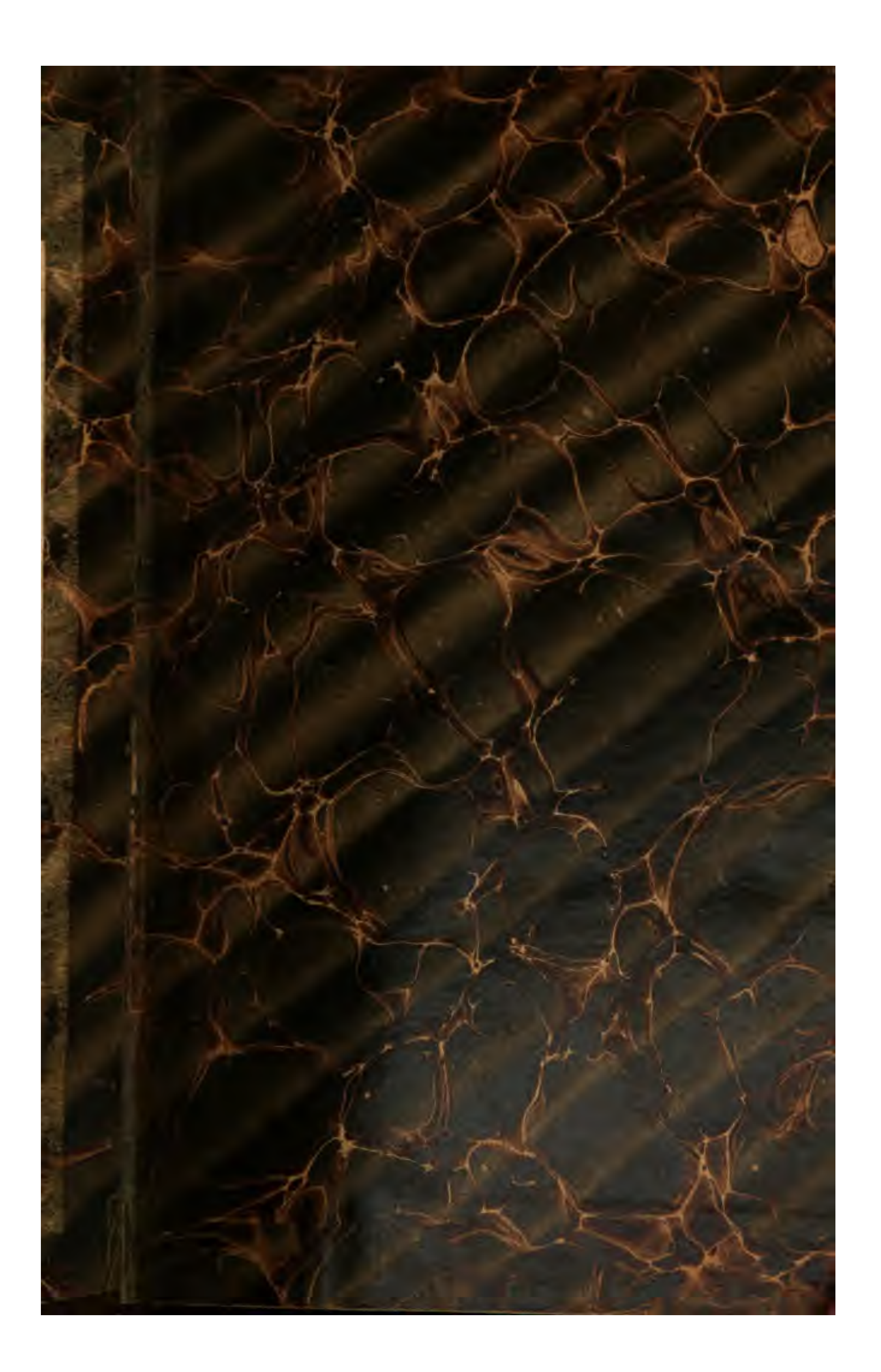



SIGILLVM ACADEMIAE HARVARDIANAE IN NOV ANG
CHRISTO ET ECCLESIAE
VE RI TAS



BIBLIOTHÈQUE SCIENTIFIQUE CONTEMPORAINE

FERMENTS
ET
FERMENTATIONS

ÉMILE COLIN — IMPRIMERIE DE LAGNY

FERMENTS

ET

FERMENTATIONS

ÉTUDE BIOLOGIQUE DES FERMENTS
ROLE DES FERMENTATIONS
DANS LA NATURE ET DANS L'INDUSTRIE

PAR

LÉON GARNIER

Professeur à la Faculté de Médecine de Nancy.

Avec figures intercalées dans le texte.



PARIS

LIBRAIRIE J.-B. BAILLIÈRE ET FILS

19, RUE HAUTEFEUILLE, près du boulevard Saint-Germain.

1888

PRÉFACE

A quelque degré de l'échelle qu'ils appartiennent, tous les êtres vivants ont besoin, pour vivre, se développer et se reproduire, d'une certaine quantité de matière dans laquelle ils puisent les éléments nutritifs qui leur sont nécessaires ; ils occupent également chacun une place à la surface du globe terrestre. Et comme place et matière sont limitées, il en résulte, entre les différents êtres qui doivent se les partager, une lutte incessante, dans laquelle l'emportent fatalement les plus forts et aussi les plus intelligents. A ce point de vue, le premier rang dans l'échelle est certainement occupé par l'homme ; c'est lui qui, dans cette lutte pour l'existence, dans ce combat de la vie, doit à son intelligence, à la puissance et au perfectionnement des procédés qu'il a inventés, d'avoir asservi à ses besoins les êtres les plus élevés, qu'ils appartiennent au règne animal ou au règne végétal.

Attiré par certains phénomènes dont la cause lui a paru occulte, l'homme a détourné son attention des espèces supérieures et tangibles, et plongeant le regard dans les profondeurs de ce monde invisible à l'œil nu, dont le microscope seul nous révèle l'immensité, à sa grande stupéfaction, souvent même à sa terreur, il y a découvert un nombre considérable d'espèces vivantes nouvelles, représentées chacune par des multitudes d'individus, dont les uns, vivant sur la matière organique inanimée, en provoquent la rétrogradation et le retour aux éléments minéraux dont elle a été formée, tandis que les autres, pénétrant dans les corps vivants, s'y développent et manifestent leur présence par des symptômes spéciaux pour chacun, et dont l'ensemble revêt la forme d'une maladie déterminée. Le développement de ces infiniment petits, disséminés partout, en quantités innombrables, dans l'eau, dans l'air, dans le sol, à la surface et dans la profondeur des êtres vivants et des corps inanimés, ne peut en effet s'effectuer sans une modification profonde du milieu dans lequel ils vivent.

Si nous laissons de côté l'étude des modifications que les *microbes* font éprouver aux êtres vivants, ce qui serait empiéter sur le domaine de la pathologie, il nous reste encore un vaste champ d'obser-

vations sur les êtres microscopiques, animaux ou végétaux, qui vivent aux dépens de la matière non organisée, minérale ou organique, sur les *ferments*, dont les manifestations biologiques, marquées par des modifications plus ou moins profondes de la *matière fermentescible* aux dépens de laquelle ils vivent, avec production de produits de fermentation nouveaux, constituent l'acte de la *fermentation.*

Dans l'ordre des faits, nous remarquerons que l'attention de l'homme a d'abord été attirée par le résultat final de la vie des ferments, c'est-à-dire par les modifications d'apparence inexplicables subies par les corps fermentescibles; ce n'est qu'ensuite que, remontant de l'effet à la cause, il a cherché sous quelle influence se produisent ces modifications, quelle en était la cause réelle et quelle modification de cette cause pouvaient introduire les agents extérieurs. Ces recherches n'ont pas toujours été entreprises dans un but purement spéculatif, et c'est la plus grande gloire des Pasteurs, d'avoir voulu et su tirer de leurs découvertes des résultats d'une application pratique aussi immédiate que féconde.

L'étude des conditions vitales des ferments organisés, et en particulier des conditions de leur nutrition, a révélé, chez un grand nombre d'entre eux,

la sécrétion de principes solubles, susceptibles d'agir sur une quantité relativement considérable de matière fermentescible, pour la transformer au préalable en substance assimilable. Ces principes, réunis aujourd'hui sous le nom de *diastases*, et autrefois de *ferments solubles*, à cause de la grandeur du rapport de l'effet à la cause dans leur action, nous les retrouverons analogues, sinon absolument identiques dans l'organisme des animaux et des végétaux les plus élevés, jouant le même rôle préparatoire et transformant en produits assimilables des composés incapables de pénétrer sous leur forme primitive dans cet organisme et de concourir à la formation des tissus et au maintien de l'équilibre normal.

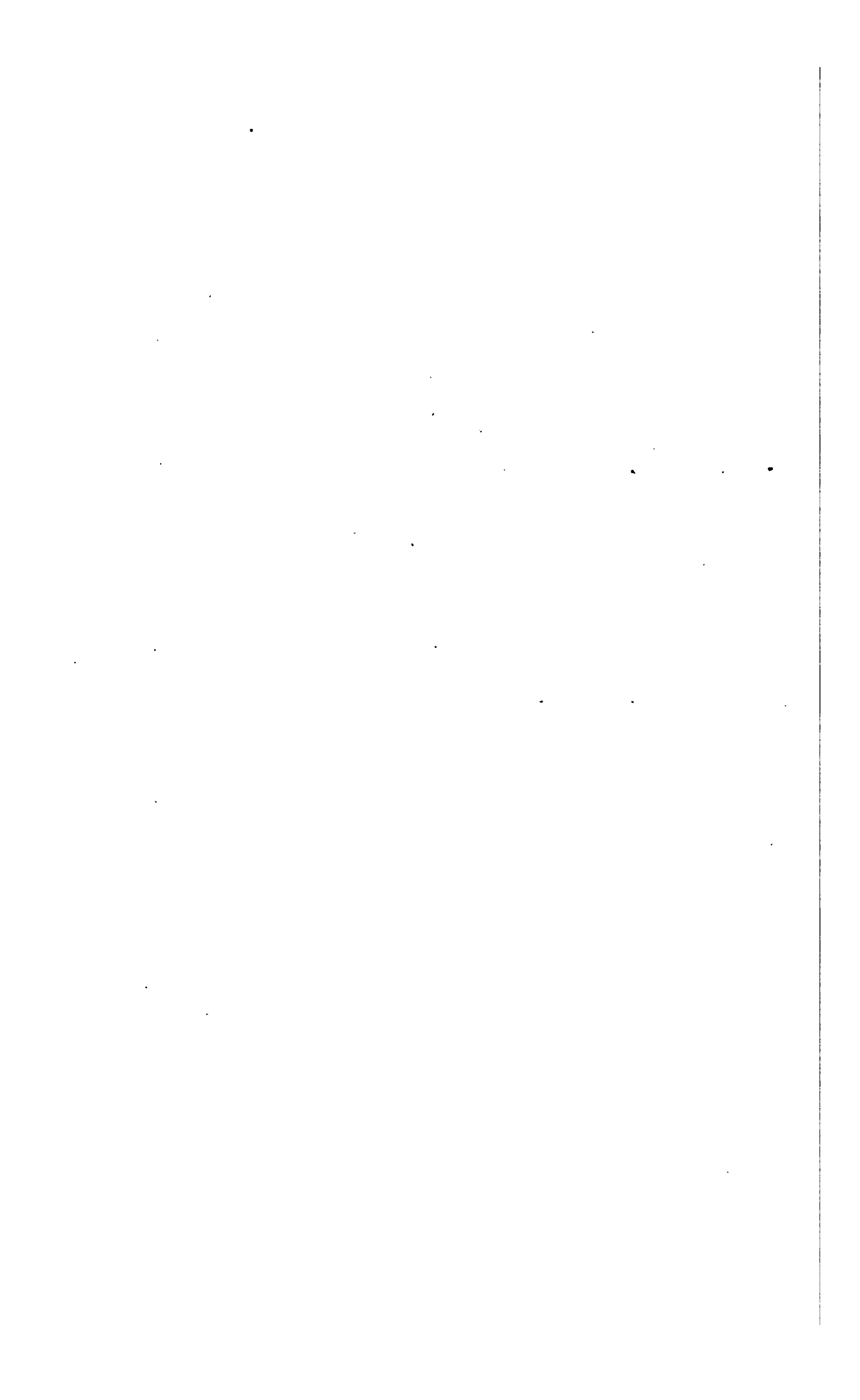
Faire un exposé complet de l'histoire des fermentations nous eût entraîné à redire les ardentes controverses des Dumas, des Gay-Lussac, des Liebig et des Pasteur, sur le rôle et le mode d'action des ferments, discussions fécondes par leurs résultats et qui ont été le point de départ des découvertes les plus importantes dans leur application à l'hygiène et à l'industrie. Les limites du cadre de la *Bibliothèque scientifique contemporaine* ne nous le permettaient pas plus que le but de ce livre, destiné surtout à ce grand public de lecteurs que toutes les questions scientifiques

attirent, mais qui s'intéresse plutôt aux résultats acquis qu'aux recherches aussi longues que délicates qui les ont précédés. Nous nous sommes donc restreint à l'énumération de ces résultats, à un exposé des faits aussi complet que possible. Pour cela, nous n'avons eu qu'à puiser à pleines mains aux sources originales, et à emprunter aux travaux de MM. Pasteur, Schutzenberger, Wurtz, Duclaux, Miquel et tant d'autres les matériaux qui nous étaient nécessaires.

Nos lecteurs verront qu'en ce siècle de microbes, à côté de ces parasites qui pullulent dans le corps humain et causent des ravages souvent irrémédiables, il est d'autres organismes microscopiques plus modestes d'allures, quoique aussi puissants dans leur action, dont l'homme a su tirer parti au même titre que des animaux et des végétaux supérieurs, en les faisant les agents inconscients d'opérations industrielles, ou en les asservissant à ses divers besoins.

Nancy, février 1888.

L. GARNIER.



FERMENTS

ET

FERMENTATIONS

CHAPITRE PREMIER

DES FERMENTATIONS EN GÉNÉRAL

§ I. — *Définition, Division.*

Le mot de *fermentation* dérive de *fervere*, bouillir ; en effet on a donné, à l'origine, le nom de *fermentations* à certains phénomènes dans lesquels une masse solide ou liquide se boursoufle et subit une espèce d'ébullition, par suite de la production abondante de gaz dans son épaisseur, et cela, sans cause apparente et connue ; telle, par exemple, la fermentation du moût de vin et celle de la pâte du pain additionnée de levain qui s'accompagnent, la première, d'un dégagement tumultueux de gaz carbonique à la surface du liquide, et la seconde d'un soulèvement, d'un boursouflement considérable de

la pâte. La cause première du phénomène est insaisissable à l'œil et se distingue essentiellement de celle qui fait bouillir l'eau quand on la chauffe, ou qui provoque le dégagement d'acide carbonique de la craie arrosée d'acide chlorhydrique. Plus tard l'expression de fermentation a été généralisée et appliquée à toute réaction chimique dont la cause paraît occulte et indéfinissable, comme par exemple la saccharification du malt, l'acidification du vin, bien que la transformation de ce liquide en vinaigre ne s'accompagne d'aucune production gazeuse.

On peut définir plus exactement la fermentation en disant que c'est une réaction chimique dans laquelle un composé toujours organique est modifié dans un sens déterminé, sous l'influence d'un autre composé également organique qui ne fournit rien de sa propre substance aux produits de la réaction, ceux-ci étant formés uniquement aux dépens de la matière fermentescible. Le corps modifié par la fermentation constitue la ***substance fermentescible*** ; l'agent qui provoque cette modification est le ***ferment***, sous l'influence duquel prennent naissance les produits de ***fermentation***. De la définition précédente il résulte qu'une très petite quantité de ferment peut opérer la transformation d'une quantité considérable de la substance fermentescible.

Il existe une relation constante entre la nature du ferment et la transformation du composé fermentescible qui, sous l'influence du premier, donne toujours naissance aux mêmes produits de fermentation.

Les travaux de Pasteur sur les fermentations nous permettent de les diviser en deux groupes bien distincts, au point de vue de la cause et de la nature de la réaction chimique qu'elles provoquent.

Dans certains cas, le ferment est non seulement organique, mais organisé, et doit être considéré comme un être vivant, animé ou non, dont les fonc-

tions physiologiques entraînent dans leur accomplissement la transformation du corps qui fermente. Ainsi le ferment de la levûre de bière est un végétal qui vit, se nourrit, se reproduit dans les liquides sucrés et dont le développement s'accompagne toujours de la décomposition du sucre en alcool, acide carbonique, glycérine et acide succinique. Les fermentations dues à des êtres organisés sont donc essentiellement des réactions chimiques dont la production est liée aux phénomènes vitaux de ces organismes : fonctionnement physiologique du ferment et transformation chimique de la substance fermentescible se produisent corrélativement. Mais l'inconnu règne encore sur l'essence même du phénomène; nous ne nous rendons aucunement compte du processus en vertu duquel le ferment amène la transformation du corps fermentescible ; et si nous admettons avec Pasteur que ce composé est assimilé comme élément nutritif par le ferment qui excrète ensuite le produit de la fermentation, nous restons cependant dans le champ illimité des hypothèses. Quoi qu'il en soit, nous avons dans ces transformations, sous l'influence d'un organisme bien déterminé pour chacune d'elles, un premier genre de fermentations, que nous désignerons sous le nom de *fermentations vraies* ou *fermentations à ferments figurés*. Leurs manifestations se traduisent, au point de vue de l'action chimique, par des phénomènes variables qui sont quelquefois des dédoublements, d'autrefois des oxydations, ailleurs des réductions, ou encore des hydratations.

Dans d'autres circonstances, la matière organique est transformée sous l'influence d'un principe azoté soluble et non plus organisé, qui agit en petite quantité et par sa seule présence sur le corps fermentescible; telle est, par exemple, la transformation de l'amidon en dextrine et en maltose sous l'influence des diastases de l'orge germé, de la salive ou du suc pancréatique, celle des matières albuminoïdes en

peptones au contact des pepsines de l'estomac, du suc pancréatique, de certaines plantes ou de celles que secrètent les microbes de la putréfaction. Le principe actif est ici un produit de sécrétion d'origine animale ou végétale ; son action se traduit au point de vue chimique par une hydratation préalable avec ou sans dédoublement ultérieur. Elle peut être obtenue par l'emploi de certains principes minéraux : ainsi la saccharification de l'amidon peut être faite aussi bien par de l'acide sulfurique étendu et chaud que par la diastase de l'orge germé ; il est vrai qu'il n'y a pas là de différence essentielle avec les ferments organisés, puisque l'acétification de l'alcool est provoquée aussi bien par la mousse de platine que par le *Mycoderma aceti*. Les fermentations de cette sorte portent le nom de *fausses fermentations* ou *fermentations à ferments solubles non organisés*, ou encore *fermentations diastasiques* (Duclaux) ; elles se rapprochent des fermentations à ferments figurés par la grandeur considérable du rapport de l'effet à la cause : elles s'en distinguent essentiellement en ce que le ferment organisé pullule et se retrouve en quantité beaucoup plus considérable à la fin de la fermentation, tandis que, par suite de leur nature non organisée, les diastases se retrouvent en même proportion qu'au début de la fermentation.

§ 2. — *Historique.*

De toutes les fermentations, la fermentation alcoolique est la plus anciennement connue ; aussi a-t-elle été la première et la mieux étudiée. C'est sur elle qu'ont porté les plus importants travaux des physiologistes et des chimistes, dont les conclusions ont été ensuite étendues par généralisation aux autres fermentations.

La culture de la vigne et la fermentation du vin

remontent à la plus haute antiquité et sont attribuées à Osiris chez les Egyptiens, à Bacchus chez les Grecs, à Noé en Judée; et il résulte de tous les documents anciens que la fermentation alcoolique, dans ses applications à la fermentation du pain ou des boissons fermentées les plus diverses, était connue empiriquement et doit remonter à une époque antérieure à celle dont l'histoire nous a été transmise par des manuscrits.

Les alchimistes du XIIIe au XVe siècle assimilent fréquemment, dans leurs écrits, les fermentations ou décompositions des produits organiques aux transformations des composés minéraux ; la pierre philosophale elle-même est un ferment, puisque de même que le levain transforme en levain nouveau une quantité pour ainsi dire illimitée de pâte, la pierre philosophale doit convertir en une même substance les plus grandes quantités de métaux divers.

Suivant Basile Valentin (Char de triomphe de l'antimoine), l'alcool préexiste dans la décoction d'orge germé ; il n'y devient apparent et ne peut en être extrait par la distillation qu'après qu'une inflammation intérieure, communiquée au liquide par la levûre de bière, a amené une purification et la séparation des parties claires et des parties troubles. Pour Libavius, le ferment doit être de même nature que la matière fermentescible sur laquelle il agit par sa chaleur propre. (*Alchymie,* 1695.)

Van Helmont (1652) confond en un même acte de fermentation la formation des gaz intestinaux, les générations spontanées, l'effervescence de la craie traitée par les acides, et reconnaît la production d'un gaz spécial (gaz vinorum), différent de l'esprit de vin, dans la fermentation alcoolique, gaz que Wren, en 1664, compare, à cause de son absorption par l'eau, à celui que les acides dégagent du sel de tartre, et que Sylvius de la Boë (1659) n'avait pas cru être produit par un phénomène analogue à la

décomposition des alcalis carbonatés par les acides, admettant dans le premier cas une décomposition et dans le second une combinaison.

Suivant Lémery (1675), le moût contient beaucoup de sel essentiel qui pénètre, divise et écarte les parties huileuses qui le liaient, les raréfie en esprit en faisant bouillir le vin qui se purifie et dont les parties les plus grossières se séparent en forme d'écume dont une partie s'attache et se pétrifie aux côtés du vase, tandis que l'autre se précipite au fond sous forme de tartre et de lie; l'esprit inflammable du vin n'est autre chose qu'une huile exaltée par les sels.

Après cette explication si peu compréhensible de la fermentation que donne Lémery, Bécher (1682) fait ressortir le premier que les liquides sucrés seuls peuvent entrer en fermentation spiritueuse, et que l'alcool ne préexiste pas dans le moût, mais se forme pendant la fermentation sous l'influence de l'air qui intervient comme dans la combustion; il a déjà l'idée de réunir, sous le nom de *fermentation*, la fermentation alcoolique, la fermentation acétique et la production de gaz par effervescence ou dans l'estomac des animaux malades. Mais c'est à Willis (1659) et à Stahl (1697) que l'on doit la première conception philosophique de la nature de la fermentation : suivant eux, le ferment doué d'un mouvement intime de décomposition transporte ce mouvement à la matière fermentescible dont les particules hétérogènes sont séparées, puis recombinées sous la forme de composés plus stables qui renferment les mêmes principes, mais en d'autres proportions. La fermentation n'est qu'un cas particulier de la putréfaction; c'est une décomposition de cellules qui en entraîne une autre.

Nous ne trouvons plus rien de frappant dans l'étude des fermentations jusqu'à Lavoisier (Traité de chimie, 1789) qui, balance en main, cherche et établit les relations pondérales qui lient la substance fermentescible,

le sucre, aux produits de la fermentation, alcool et acide carbonique. (Voir p. 99.)

La levûre ne commence guère à être connue que vers 1680; c'est Leuwenhoeck qui, le premier, constate au microscope sa forme globulaire, sphérique ou ovoïde. Mais quelle est sa nature? minérale, végétale, animale ou végéto-animale comme le voulait Fabroni (1787)! en 1803, Thénard reconnaît que tous les jus sucrés naturels, par fermentation spontanée, donnent un dépôt dont l'aspect et l'activité sont les mêmes que ceux de la levûre de bière et dont la composition chimique est celle des matières animales, et Astier admet, en 1813, que le ferment d'origine animale de Fabroni vit et se nourrit aux dépens du sucre. Gay Lussac remarque, en outre, que cette fermentation spontanée ne se produit qu'autant que les jus ont reçu, ne fût-ce qu'un instant, le contact de l'air; l'oxygène est nécessaire pour commencer la fermentation; il ne l'est pas pour la continuer.

En 1828, Collin établit par un grand nombre d'expériences qu'une foule de substances organiques azotées, différentes de la levûre, et en voie d'altération, provoquent la fermentation alcoolique de l'eau sucrée, mais Schmith de Dorpatt, reprenant les expériences de Collin, montre que le développement des globules de levûre est toujours concomitant à la production d'alcool.

Les observations microscopiques de Leuwenhoeck sont continuées par Kiéser (1814) qui décrit la levûre comme formée de petits corpuscules sphériques, par Desmazières (1826) qui étudie la pellicule formée à la surface de la bière par le *Mycoderma cerevisiæ* de Persoon, puis enfin par Cagniard-Latour en France (1836), qui reconnut que la levûre est un amas de globules organisés, se reproduisant par bourgeonnement, et appartenant au règne végétal; ces globules dégagent probablement de l'acide carbonique et con-

vertissent le sucre en alcool par quelque effet de leur végétation et de leur vie (Cagniard). Cette découverte, refaite presque en même temps (1835) par Schwann d'Iéna et par Kützing, de Berlin, confirmée par Quevenne, Turpin, Mitscherlich, conduisit aux conclusions suivantes : la levûre de bière est formée de cellules organisées et vivantes, composées, comme les cellules végétales ou animales, d'une enveloppe renfermant un protoplasma granuleux ; elle accompagne toutes les fermentations alcooliques franches.

La nécessité de la levûre dans la fermentation alcoolique étant établie, il nous reste à étudier le rôle qu'elle joue dans la transformation du sucre en alcool et à exposer les théories qui ont été émises à ce sujet.

Berzelius considérait les fermentations comme des actions catalytiques ; tout en admettant les nouvelles formations du ferment, il attribuait à la levûre une constitution amorphe et une action de présence comparable à celle de la mousse de platine sur l'alcool. C'est à cette théorie que s'est rallié plus tard Mitscherlich, tout en reconnaissant l'organisation du ferment.

Pour Liebig et Gérhardt le ferment agit encore par action de contact ; « la levûre de bière et en général » toutes les matières animales ou végétales en putré- » faction reportent sur d'autres corps l'état de dé- » composition dans lequel elles se trouvent. Le mou- » vement qui, par la perturbation d'équilibre, s'im- » prime à leurs propres éléments, se communique » également aux éléments des corps qui se trouvent » en contact avec elles ». (Liebig, 1839). La fermenta- » tion est donc corrélative de la décomposition, de la mort de la cellule, et l'on peut caractériser la théorie de Liebig d'un mot : La fermentation est une décomposition qui en entraîne une autre. Comme l'a fait remarquer M. Pasteur, cette interprétation était surtout née de l'étude d'autres fermentations

(lactique, butyrique), où l'on n'avait pu démêler de ferment organisé. C'était la théorie primitive de Willis et Stahl.

MM. Frémy et Boutron supposèrent ensuite que le caractère de la fermentation varie avec le degré d'altération de la substance capable d'agir comme ferment; en conséquence, la présence constante d'un élément organisé dans la fermentation alcoolique n'a qu'une importance secondaire, la fermentation résultant, non de l'action des globules de levûre en tant qu'être vivant, mais de la décomposition des matières protéiques de cette levûre envisagée comme substance azotée putrescible; dans ces conditions l'opinion de Gay-Lussac sur la nécessité du contact primitif de l'air et de la substance fermentescible était acceptable, ce contact déterminant l'ébranlement moléculaire des matières albuminoïdes du moût de raisin.

A la suite des travaux de Cagniard-Latour sur la levûre alcoolique, Turpin attribuait à ses globules végétaux, à leur germination, à leur végétation, à leur nutrition, la production de l'alcool aux dépens des éléments du sucre. Cette théorie, soutenue par Schwann et Kützing, combattue par Ehrenberg et Gay-Lussac, fut reprise et vigoureusement défendue par M. Pasteur. La fermentation alcoolique est corrélative de l'organisation, du développement, de la multiplication, c'est-à-dire de la vie de la cellule; la décomposition du sucre est intimement liée aux fonctions physiologiques de la levûre; celle-ci n'agit pas en raison des matières protéiques qu'elle renferme, comme le ferait toute autre substance azotée, mais par elle-même; elle n'est pas un accident fortuit et secondaire de la fermentation, mais la cause réelle. C'est la théorie vitaliste, théorie physiologique de la fermentation formulée déjà en 1838 par Turpin : « Fermentation comme effet, végétation comme cause. »

En résumé, les *théories de la fermentation* alcoolique en particulier, et des fermentations en général, sont au nombre de trois principales :

1° La théorie vitaliste formulée par cette phrase de Turpin : « Fermentation comme effet et végétation comme cause sont deux choses inséparables dans l'acte de décomposition du sucre », soutenue par Astier, Cagniard-Latour, Schwann, Kützing, Bouchardat, van de Broch, Schrœder, Pasteur, Bichat.

2° La théorie mécanique de Willis, Stahl, Liebig, admise par Gérhardt, Frémy et Boutron ;

3° La théorie des forces catalytiques et des actions de contact de Berzélius et Mitscherlich.

De ces théories, la première seule est généralement admise aujourd'hui, mais quelquefois avec de légères modifications. C'est ainsi que M. Berthelot, se basant sur des expériences personnelles dans lesquelles il a observé la production d'alcool sans formation de levûre, considère les fermentations comme le résultat de l'action d'une substance soluble qui serait secrétée par les ferments comme l'inversine par la levûre de bière ; c'est-à dire que les ferments figurés élaboreraient un ferment soluble analogue à la diastase de l'amidon, lequel provoquerait la transformation de la substance fermentescible et serait le véritable agent de la fermentation. Quoi qu'il en soit, que le ferment organisé agisse immédiatement ou secondairement par l'intermédiaire d'un produit de secrétion, on arrive toujours en fin de compte à un mouvement de la matière communiqué plus ou moins directement, et sous la dépendance immédiate de la force vitale, ce qui distingue cette interprétation des phénomènes de la manière de voir de Liebig, pour lequel la décomposition des matières albuminoïdes transmet son mouvement moléculaire au sucre pour le décomposer à son tour, et de la théorie de Berzélius, qui ne veut voir dans la fermentation qu'une

simple action de contact due à la *force catalytique* que possède la levûre, et analogue à celle qui réside dans la mousse de platine quand elle provoque l'oxydation de l'alcool.

§ 3. — *Idée générale de la vie. — Nécessité du rôle ferment. — Dissémination universelle des ferments.*

Si, dans un pot rempli de grès calciné, l'on sème un grain de blé et qu'on l'arrose régulièrement avec de l'eau distillée, ce grain, au bout d'un certain temps, germe, se développe et donne une plante complète, grêle et délicate il est vrai, mais pourvue de tous ses organes et capable de se reproduire par fructification; cette expérience capitale de Boussingault prouve que le grain a trouvé dans l'eau et dans l'air tous les éléments nécessaires à la formation de ses tissus : la nouvelle plante s'est développée aux dépens de l'azote et des sels minéraux que renfermaient la graine, de là sa gracilité; mais avec le carbone que ses feuilles garnies de chlorophylle ont enlevé à l'acide carbonique de l'air et l'eau d'arrosage, elle a fabriqué de toutes pièces, et par synthèse, les composés hydrocarbonés, cellulose, amidon, graisse, en d'autres termes tous ses éléments non azotés. Ajoute-t-on à l'eau de l'ammoniaque ou des dérivés oxygénés de l'azote, des phosphates, etc., la plante pousse vigoureusement cette fois, mais toujours la balance permet d'établir que le poids total de matière organique qui la constitue est notablement supérieur à celui qui existe à l'origine dans le grain, le grès où il a été semé et l'eau qu'on lui a fournie. Elle a fabriqué de toutes pièces ses matériaux vivants, en empruntant les éléments à l'air et à l'eau.

« Toute plante nous apparaît donc comme un la-
» boratoire de synthèse organique, consommant la
» force qui lui vient de l'extérieur sous forme de

» chaleur solaire, et l'employant à engager des élé-
» ments primitivement gazeux ou solubles dans l'eau,
» dans des combinaisons de plus en plus complexes,
» de plus en plus éloignées de leur forme primitive,
» de plus en plus combustibles. De telle sorte que
» nous pouvons voir, dans le tapis de végétation qui
» couvre le sol, un magasin de chaleur solaire,
» dépensée à donner une forme organique aux élé-
» ments de l'air et de l'eau.

« Les animaux à leur tour vivent de végétaux où
» d'autres animaux, qui eux-mêmes ont consommé
» des végétaux. Les sources de leur activité vitale sont
» les mêmes que tout à l'heure, et nous pouvons
» étendre au monde vivant tout entier les conclusions
» que nous venons de démontrer pour le règne
» végétal.

« Mais une fois produite aux dépens d'éléments
» gazeux ou solubles, cette matière organique est
» devenue solide et insoluble dans l'eau. Elle est
» immobilisée, absolument impropre à nourrir un
» végétal nouveau, et si par un mécanisme quel-
» conque elle ne rentrait pas dans le courant général,
» l'atmosphère s'épuisant peu à peu de ses éléments
» organisables, l'eau devenant de plus en plus pauvre
» en produits utilisables, la continuation de la vie
» deviendrait bientôt impossible à la surface du
» globe. Il faut donc qu'à un moment donné la mort
» vienne détruire ce qu'a fait la vie et que tout ce qui
» a fait partie des matériaux d'un être organisé re-
» tourne après lui à l'atmosphère ou à l'eau. »
(M. Duclaux).

Cette doctrine du cycle continu de la matière, déjà indiquée par Lucrèce, qui la rattache à l'idée de son indestructibilité, énoncée clairement par Lavoisier à une époque où l'analyse organique n'existait pas encore, puis vérifiée après que les méthodes de l'analyse organique permirent d'établir exactement la composition des principes immédiats qui font par-

tie des tissus des animaux et des végétaux, et de dresser le bilan des échanges mutuels de leurs éléments, se trouve énoncée et démontrée par Dumas et Boussingault (1).

Mais le mécanisme du phénomène, la nature de l'agent qui restitue au règne minéral les éléments de la matière organique n'avaient été qu'entrevus par Dumas et Boussingault, qui expliquaient cette transformation en disant qu'il y a fermentation et putréfaction. C'est à M. Pasteur que revient l'honneur d'avoir montré que la destruction de la matière organique, que sa minéralisation exige le concours d'une vie nouvelle, l'apparition sur ces composés organiques d'organismes inférieurs employant à les détruire une partie de la force latente qui y est accumulée. En effet, ces matériaux organiques, quoique très oxydables, très combustibles par suite de leur production avec absorption de chaleur, sont très stables à l'état solide et même au contact de l'eau, à condition qu'on élimine toutes les causes d'introduction des germes de l'atmosphère. Que si on laisse se produire le développement des êtres inférieurs, nous voyons au contraire le liquide se troubler et l'oxygène de l'atmosphère ambiante disparaître rapidement, remplacé par de l'acide carbonique ; en même temps les matériaux organiques sont consommés et réduits à l'état d'éléments minéraux par ces organismes parasites.

« La vie des grands végétaux et des grands animaux se résume, comme nous l'avons vu, dans la création, aux dépens de la chaleur solaire, de substances dont la production exige une certaine dépense de force. C'est dans ces substances endothermiques que s'implantent les êtres inférieurs. De la force qu'ils y trouvent emmagasinée, ils empruntent une portion pour la

(1) *Essais de statique chimique.*

» construction de leurs tissus, ce qui les rend, jus-
» qu'à un certain point, indépendants des conditions
» extérieures. Une autre portion est employée à
» donner l'état gazeux à des substances primitive-
» ment liquides ou solides. Une autre portion enfin
» se transforme en chaleur sensible et sert à élever la
» température du liquide où se produisent tous ces
» phénomènes et par suite à en activer la marche. »
(Duclaux).

Ces êtres inférieurs, dont le rôle est ainsi de détruire la matière organique et de la ramener à des éléments minéraux, et qui sont, à la surface de la terre, le contrepoids de la vie des grands végétaux, constituent les *ferments*.

Il est intéressant, pour se rendre un compte exact de la notion que comporte cette dénomination, de comparer la puissance de destruction de ces infiniment petits et celle des êtres supérieurs.

Les grands végétaux consomment de la matière dans tout le courant de leur vie, mais en quantité inférieure à celle qu'ils produisent, sauf à deux moments de leur existence où la dépense dépasse le gain, au moment de la germination et de la floraison; au moment de la germination, par exemple, les expériences de Boussingault montrent que des graines de trèfle et de froment ont perdus 6/100 de leur poids, ce qui correspond à peu près à huit jours de vie active et à une consommation quotidienne de 2/100 environ.

Un homme de 65 kilogr. ne consomme et ne détruit par jour que 1/50 de son poids de matière organique; un chien consomme environ 1/25 et des pigeons 1/14 de leur poids.

La transformation de matière organique en substance minérale est donc encore relativement faible chez les animaux qui, cependant, mieux et plus régulièrement que les végétaux, sont des brûleurs et des destructeurs de matière.

Si nous passons maintenant aux infiniment petits, nous trouvons des nombres beaucoup plus élevés. L'*Aspergillus niger*, vivant à la surface d'une solution de sucre, consomme environ 1/6 de son poids de sucre: la levûre de bière transforme en alcool, corps incomplètement brûlé, et en acide carbonique, trois fois son poids de sucre par jour; le *mycoderma aceti* transforme en acide acétique cent fois son poids d'alcool; enfin dans certains cas de fermentation butyrique, le rapport pondéral est encore bien plus considérable.

L'énergie destructive des ferments est donc notablement supérieure à celle des animaux et des végétaux et permet de comprendre comment, malgré leur petitesse, ils peuvent suffire à leur tâche.

Mais pour atteindre leur but, il faut qu'ils se trouvent disséminés partout à la surface de la terre. Ils doivent en outre résister, eux ou leurs germes, aux agents atmosphériques dont l'action destructive tend à en diminuer constamment le nombre et l'énergie d'action; nous aurons à revenir sur la résistance des microbes aux divers agents physiques et chimiques; nous nous contenterons pour l'instant d'insister sur leur présence en tous les points du globe.

Ehremberg le premier (1830) reconnut dans l'air la présence des spores de cryptogames et des œufs d'infusoires; ce fait confirmé par Gaultier de Claubry (1832), Pouchet (1860), puis par M. Pasteur, a été reconnu général à la suite des recherches aéroscopiques de Maddox, de Douglas Cunningham, enfin et surtout de MM. Schœnhauer et Miquel, à l'observatoire de Montsouris. Des déterminations de ce dernier expérimentateur, faites d'octobre 1878 à septembre 1879, il résulte que la moyenne générale a été de 15,400 germes par mètre cube d'air, avec des oscillations qui ont pu varier de 2,000 à 120,000. Il en est évidemment de même en tous les points du globe, avec cette différence que le voisinage des êtres supé-

rieurs et des matières organiques doit coïncider avec une notable augmentation des microbes.



Fig. 1.

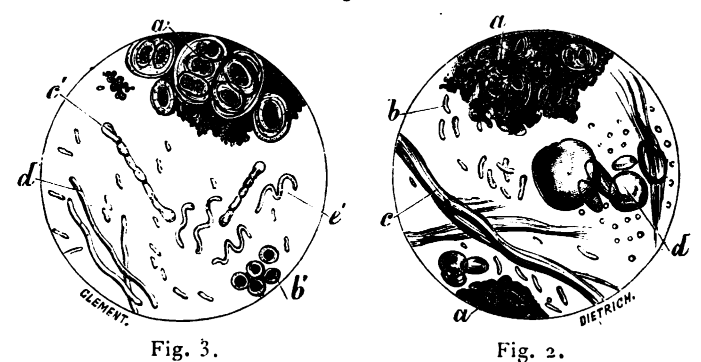


Fig. 3. Fig. 2.

Fig. 1. Une pièce de monnaie avec les incrustations *a*, *b*, *c*. — Fig. 2. Une partie de la masse incrustée vue au microscope (gross. de 200 à 250 diam.). *a*, algues; *b*, bactéries; *c*, fibres de coton; *d*, grains d'amidon. — Fig. 3. Même masse grossie plus forcément; *a'*, algues (chriococcus); *b'*, algues unicellulaires; *c'*, bacillus spécial; *d'*, vibrio; *e'*, spirillum.

C'est ainsi que M. Pasteur a trouvé que l'air des pays où l'on cultive le ver à soie renferme le microbe producteur de la maladie des *corpuscules*, au moment où sévit l'affection; que d'autres observateurs ont rencontré dans l'air des globules de levûre alcoolique au moment des vendanges, etc.

Cette dissémination générale des organismes inférieurs est encore démontrée par les recherches aussi curieuses que récentes de M. Schaarschmidt sur la flore des billets de banque (1).



Fig. 4. Billet de banque russe d'un rouble

M. Reinsch (2) avait découvert, en 1884, des algues et des bactéries dans les interstices du relief des figures et des lettres de pièces de monnaie en circulation (fig. 1 à 3). En examinant au microscope des fragments provenant des dépôts de crasse et de poussière sur des billets de banque austro-hongrois et russes (fig 4). M. Schaarschmidt a trouvé sur tous

(1) Schaarschmidt, *la flore des billets de banque* (*Science et nature*. III, p. 257, 1885.)

(2) Reinsch, *herborisation sur une pièce de monnaie*, (id., II, p. 193, 1884.)

ces billets, même les plus neufs et les plus propres en apparence, d'abondants cryptogames et divers microbes (fig. 5), dont voici la liste complète :

1° Micrococcus (plusieurs variétés);
2° Bacterium termo;
3° Bacillus (formes diverses);
4° Leptothrix (formes variées);
5° Saccharomyces cerevisiœ;
6° Croococcus monetarum;
7° Pleurococcus monetarum;

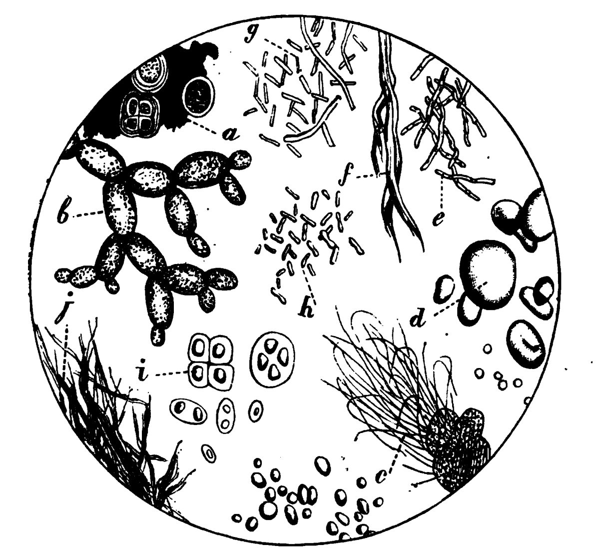


Fig. 5. *a*, micrococcus; *b*, saccharomyces cerevisiæ, *c*, leptothrix; *d*, amidon; *e*, leptothrix buccalis; *f*, *j*, fils de coton et de lin; *g*, bacillus; *h* bactérium termo; *k*, pleurococcus monetarum.

En résumé, si l'action destructive de la matière organique par les organismes microscopiques exige la présence de ces derniers en tous les points de la terre où la rétrogradation à l'état minéral doit s'effectuer, l'expérience démontre la réalité de cette dis-

sémination et permet d'affirmer que, sauf les cas spéciaux de stérilisation, on trouve toujours, mais en quantité variable, ces micro-organismes aussi bien dans l'air qu'à la surface ou à l'intérieur des solides et des liquides.

§ 4. — *Conditions d'alimentation des êtres microscopiques. — Nécessité de la sécrétion des diastases.*

Malgré leur forme unicellulaire et la simplicité de leur organisation, les êtres microscopiques ont une composition chimique complexe; ils renferment du charbon, de l'hydrogène, de l'oxygène, de l'azote et des éléments salins dont les plus importants sont les phosphates; ces corps simples sont combinés à l'état de composés organiques divers que l'on retrouve chez les êtres supérieurs; chaque cellule est formée d'une enveloppe de nature cellulosique contenant un protoplasma où l'on trouve toujours des substances hydrocarbonées solubles dans l'eau, des graisses et des matières azotées qui paraissent être les mêmes que dans les tissus des animaux supérieurs; il n'y a donc, à priori, au point de vue de la composition immédiate, aucune différence entre les organismes ferments, les végétaux et les animaux; il en est de même des conditions de nutrition ainsi qu'on va le voir; les êtres que nous avons à étudier ne sont inférieurs aux autres que par leurs dimensions.

Les matériaux nutritifs qui peuvent alimenter directement les êtres supérieurs peuvent aussi alimenter les infiniment petits; ceux qui exigent l'action hydratante préalable d'une diastase, pendant la digestion ou autrement, pour être assimilés, rencontrent cette action aussi bien chez les végétaux et les animaux que chez les ferments; enfin les produits de cette hydratation sont les mêmes partout.

La nature de l'aliment de prédilection de chaque

ferment et ses produits de décomposition seront étudiés à propos de chacun de ces micro-organismes; il ne s'agit ici que d'établir l'identité de nature et d'action des diastases qu'ils sécrètent et que sécrètent certaines cellules spéciales des animaux et des végétaux, et qui ont pour rôle de faire subir aux aliments non directement assimilables une transformation préalable. Ces diastases appartiennent à la classe des ferments solubles; nous les distinguerons, d'après M. Duclaux, par des dénominations rappelant la substance sur laquelle elles agissent.

Amylase. — L'amylase est la diastase qui transforme l'amidon en produits solubles et assimilables, dextrine et maltose, celle-ci pouvant fermenter alcooliquement. Cette amylase existe dans le malt où elle se produit pendant la germination du grain, dans les tubercules en germination, dans les racines amylacées, dans les graines de vesces, et semble être la même partout; elle est secrétée par l'Aspergillus glaucus et le Penicillium glaucum. Chez les animaux, on la trouve dans les glandes salivaires, dans le pancréas et dans leurs produits de sécrétion, salive et suc pancréatique, enfin dans le foie; la salive et surtout le suc pancréatique sont les agents de digestion de l'amidon cuit; l'amylase du foie agit sur le glycogène ou amidon animal qui se forme et s'accumule dans cet organe pendant la digestion (Cl. Bernard).

Sucrase. — La sucrase transforme la saccharose en sucre interverti, mélange de glucose et de lévulose seules assimilables; aussi l'injection de saccharose dans les veines la fait-elle apparaître dans les urines. La transformation est manifestée par une interversion du pouvoir rotatoire qui passe à gauche, et par la réductibilité de la liqueur cupropotassique; elle se produit aussi sous l'influence des acides minéraux étendus, surtout à chaud, et par conséquent dans l'estomac où le suc gastrique doit son acidité normale à de l'acide chlorhydrique. Cette sucrase

existe dans les végétaux qui utilisent leurs réserves de sucre, par exemple dans la betterave en germination, dans la canne à sucre en fleurs, dans la levûre de bière qui ne détermine la fermentation alcoolique qu'après interversion, dans le suc intestinal de l'homme et des animaux (Cl. Bernard), bien que le foie paraisse être l'organe ordinaire de la digestion du sucre cristallisable dont la majeure partie est absorbée en nature dans l'estomac avant d'avoir été intervertie ; en effet la saccharose injectée dans le système de la veine porte, et obligée de traverser le foie, n'apparaît plus dans les urines, preuve qu'elle y a subi une transformation qui la rend assimilable.

Présure et caséase animales. — L'estomac du jeune mammifère en lactation ne renferme que de la présure qui coagule la caséine sans la transformer autrement. Chez l'animal adulte, la présure a disparu, remplacée par de la pepsine ; chez ces derniers la coagulation stomacale du lait se fait encore, mais sous l'influence de l'acide du suc gastrique ; et ce n'est que quand le caséum passe dans l'intestin grêle et se mélange au suc pancréatique alcalin, que, sous l'influence de la caséase de ce suc, il se dissout pour se transformer ensuite en albuminose ou peptone dyalisable et assimilable.

Présure et caséase des microbes. — Parmi les ferments de la caséine que nous aurons à étudier nous en trouverons un qui coagule d'abord le lait, puis redissout le caséum qui se transforme ensuite en peptone ; les ferments de la caséine secrètent donc de la présure et de la caséase mélangées, dont on retrouve de semblables dans le monde végétal : ainsi le suc de figuier, les fleurs d'artichaut, le jus frais du *Galium verum* ou *caille-lait* ont la propriété de coaguler le lait comme la présure.

Ce qui précède démontre à l'évidence que les diastases des matières amylacées, des sucres, et des albuminoïdes sont les mêmes dans toutes les cellules

vivantes, à quelque degré de l'échelle des êtres organisés qu'eiles appartiennent. Nous allons retrouver ces diverses diastases dans l'étude générale des ferments solubles que nous allons faire. C'est en effet par ces ferments solubles que nous croyons logique de commencer l'étude particulière des ferments, étant donné leur rôle dans la préparation, dans la transformation assimilatrice des éléments nutritifs des ferments figurés.

Nous adopterons dans cette étude l'ordre suivant :

1° *Ferments solubles,* diastases.

2° *Moisissures.*

3° *Levûres* ou saccharomyces.

4° *Bactéries* ou schizomicétes.

CHAPITRE II

FERMENTS SOLUBLES OU DIASTASES

Les ferments solubles dérivent tous d'organismes vivants, au sein desquels ils ont pris naissance. Ces ferments, *diastases, enzymes* ou *zymases*, sont extrêmement nombreux ; on les trouve dans un grand nombre de cellules en voie de développement, leur apparition coïncidant avec celle de la vie, et leur sécrétion cessant avec elle ; de cette coïncidence il est permis de présumer qu'ils jouent un rôle important dans les transformations chimiques dont le protoplasma est le siège, rôle préparatoire comparable à celui dont certains d'entre eux sont chargés dans les phénomènes chimiques du tube digestif de l'animal.

1. — *Propriétés générales et composition des diastases.*

Les indications données par les auteurs sur les propriétés et surtout la composition des diastases présentent de notables divergences ; mais, comme l'a fait remarquer M. Lœw, il est probable que ces diffé-

rences doivent être attribuées à la pureté insuffisante de ces ferments. Leur composition les rapproche des matières albuminoïdes ; elles renferment en effet du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et de l'azote ; mais l'analogie ne va pas plus loin. Les diastases retiennent énergiquement des matières minérales, et l'on a trouvé des échantillons en contenant jusqu'à 20 pour 100 ; en outre elles sont souvent mélangées à la matière fermentescible ou à des produits résultant de l'action du ferment, dont il est difficile de les séparer ; et il paraît certain qu'à part la papaïne et la pancréatine, aucune diastase n'a été obtenue à l'état de pureté parfaite. Ainsi la diastase du malt, précipitée par l'alcool, retient de la dextrine et donne de la glucose lorsqu'on la fait bouillir avec de l'acide sulfurique faible ; l'invertine du foie contient plus de 50 pour 100 de glycogène ; celle de la levûre renferme de la gomme et a donné à M. Kiliani, par son ébullition avec l'acide sulfurique à 5 pour 100, de notables proportions de glucose.

Il est donc naturel que les analyses des diverses diastases accusent une trop faible teneur en azote, oscillant pour l'amylase, l'émulsine, l'invertine du foie entre 4,6 et 14 pour 100, alors que la papaïne et la pancréatine (mélange des ferments peptogène et saccharifiant) en renferment de 16 à 17 pour 100 ainsi qu'il résulte des chiffres suivants :

	Papaïne.	Pancréatine	Albumine peptone.
C..........	52.48	52.75	52.28
H..........	7.24	7.51	7.03
Az..........	16.59	16.55	16.38
	(Wurtz.)	(Lœw.)	(Henninger.)

Nous trouvons ainsi deux ferments que l'on peut considérer comme purs, dont la composition est la même que celle des peptones.

C'est en effet des peptones ou plutôt des propep-

tones que se rapprochent le plus la papaïne de Wurtz et la pancréatine de Lœw ; elles ne s'en différencient que par leur pouvoir ferment ; et si l'on détruit cette propriété par la chaleur, rien ne permet, du moins actuellement, de les différencier. Et si l'on peut généraliser et, par anticipation, étendre à toute la série les résultats des observations de Wurtz et de Lœw, on peut attribuer aux diastases pures les caractères suivants :

Les diastases sèches se présentent sous la forme d'une poudre blanche, pulvérulente, amorphe ; par la calcination elles dégagent une odeur de corne brûlée ; solubles dans l'eau, elles sont insolubles dans l'alcool que précipite la solution aqueuse, et dans l'éther ; elles se dissolvent également dans la glycérine. Le précipité que donne l'alcool dans leur solution aqueuse est sous la forme d'une masse visqueuse s'étirant en fil et durcissant au contact de l'alcool fort. La solution aqueuse se trouble faiblement par la chaleur ; les acides chlorhydrique et nitrique donnent des précipités solubles dans un excès de réactif, le cyanure jaune additionné d'acide acétique, les acides métaphosphorique et picrique, le tannin, le chlorure de platine précipitent abondamment ; l'acétate et le sous-acétate de plomb ne donnent rien. Avec le réactif de Millon, il se produit une coloration rose ; avec le sulfate de cuivre et la potasse, la réaction caractéristique des peptones.

Les diastases sont remarquables par la facilité avec laquelle elles sont entraînées de leur solution aqueuse par tous les précipités amorphes auxquels on donne naissance dans le liquide. C'est ainsi que le sublimé corrosif, les sels plombiques et la plupart des sels métalliques les précipitent des liquides extraits de l'organisme ; elles sont englobées et entraînées par les précipités que ces sels forment avec les matières albuminoïdes ; mais quand on décompose ces précipités par l'acide sulfhydrique, le ferment se redissout.

accompagné de plus ou moins de matières albuminoïdes.

§. 2 — *Préparation des diastases.*

C'est en se fondant sur cette propriété que l'on a imaginé diverses méthodes d'extraction et de purification des diastases.

Conheim obtient la ptyaline pure ou diastase salivaire en acidifiant fortement la salive (ou le produit de la macération aqueuse des glandes salivaires) avec de l'acide phosphorique, puis neutralisant par l'eau de chaux jusqu'à réaction alcaline. Le précipité de phosphate tricalcique entraîne avec lui toute la ptyaline et de la matière albuminoïde ; on le recueille sur un filtre et on le lave avec un peu d'eau. Le dépôt cède la diastase au dissolvant et retient la matière protéïque ; le liquide traité par l'alcool donne un dépôt blanc, léger, floconneux qui, séché dans le vide, se transforme en une poudre presque incolore ; on peut pousser plus loin la purification en redissolvant le précipité alcoolique dans l'eau, et traitant de nouveau par l'alcool.

Pour isoler la pepsine (diastase peptogène du suc gastrique), on procédera d'une façon analogue, soit avec le suc gastrique provenant d'une fistule, soit avec le liquide de macération de la muqueuse de l'estomac dans de l'eau contenant 5 p. 100 d'acide phosphorique ; mais comme ce ferment adhère plus énergiquement au phosphate tribasique, on transforme au préalable ce dernier en phosphate bibasique par addition d'une quantité suffisante d'acide phosphorique, puis on lave à l'eau. On peut encore dissoudre le précipité de phosphate de chaux dans de l'acide chlorhydrique étendu, ajouter au liquide une solution de cholestérine dans un mélange de 4 d'alcool pour 1 d'éther, agiter la cholesterine qui

se sépare avec le liquide, la recueillir sur un filtre, laver avec de l'eau acidulée par l'acide acétique, puis à l'eau distillée. La cholesterine humide qui retient la pepsine est dissoute avec de l'éther pur; il se forme une couche aqueuse inférieure qui contient la pepsine qu'on précipite par l'alcool (Brücke).

On peut précipiter les extraits aqueux des diastases par le collodion : le précipité bien lavé est desséché, puis épuisé par de l'éther alcoolisé et aqueux qui dissout le fulmi-coton et laisse une solution du principe actif privé de matière albuminoïde (Danilewsky.)

Wittich a proposé une méthode générale pour la préparation des zymases : l'organe végétal ou animal qui contient le ferment soluble est rapidement divisé, lavé au besoin à l'eau pour enlever le sang, abandonné pendant 24 heures dans l'alcool, puis séché à l'air, pulvérisé et tamisé. La poudre est delayée dans de la glycérine et laissée en macération pendant plusieurs jours ; on précipite ensuite la solution glycérinée par l'alcool ; en reprenant plusieurs fois par la glycérine, puis précipitant par l'alcool, on obtient une poudre active, exempte de matières albuminoïdes.

Pour extraire la papaïne du *Carica papaya*, Wurtz opère comme suit : on traite le suc filtré ou la dissolution aqueuse du latex desséché par l'alcool ; le précipité redissous dans l'eau est additionné de sous-acétate de plomb qui précipite les matières albuminoïdes seules; le liquide filtré, débarrassé de l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré, puis filtré de nouveau, est additionné peu à peu d'alcool de manière à produire d'abord un faible précipité qui entraîne un reste de sulfure de plomb; l'addition d'un excès d'alcool précipite la papaïne pure.

M. Lœw a employé le procédé suivant pour obtenir à l'état de pureté le ferment du pancréas : la glande hachée est abandonnée à elle-même pendant

2 jours à 14°, puis mise à digérer pendant deux autres jours avec une fois et demi son poids d'alcool à 40 degrés. La masse est alors passée à travers un tamis de soie, le liquide obtenu est filtré et précipité par un mélange de 2 volumes d'alcool et 1 d'éther. Le précipité exprimé est dissous dans l'eau, reprécipité par l'alcool éthéré, recueilli, desséché sur l'acide sulfurique, puis enfin remis en dissolution dans l'eau et soumis au procédé de traitement par le sous-acétate de plomb qui vient d'être décrit pour séparer les peptones du ferment peptogène qui n'est pas précipité par le sel plombique. La solution finale, traitée par l'alcool éthéré, abandonne le ferment qu'on lave à l'alcool absolu et desséche sur l'acide sulfurique.

L'extravasation des diastases hors de leurs glandes de sécrétion est souvent facilitée en communiquant au liquide extérieur la réaction que possède la secrétion digestive naturelle; c'est ainsi que l'extraction de la pepsine de la muqueuse de l'estomac est beaucoup plus rapide en faisant digérer la muqueuse dilacérée dans l'eau fortement acidulée soit par l'acide chlorhydrique, soit par l'acide phosphorique, que dans l'eau pure. D'autrefois on obtient le même résultat par l'addition de solution salines étendues : la présure, par exemple, peut être extraite de la muqueuse stomacale du veau mise en macération dans de l'eau distillée à la température de 35° ; à plus basse température il faut activer l'extraction par l'addition au liquide, soit d'acide chlorhydrique étendu, soit de sel marin dans la proportion de 3 à 6 pour 100 (Sohxlet.)

Enfin, quand on passe par la précipitation des solutions aqueuses au moyen de l'alcool, il ne faut laisser que le moins possible le précipité au contact de l'alcool qui rend la diastase insoluble, et d'autant plus que la solution aqueuse était plus étendue; aussi la présure, laissée 48 heures au contact du liquide alcoolique au sein duquel elle s'est précipitée, ne présente plus que le dixième de son activité initiale.

§ 3. — *Conditions d'action des diastases en général.*

Comme pour les ferments organisés, l'activité des diastases est sous la dépendance de la *température :* d'une manière générale on peut dire qu'elle croît avec la température jusqu'à une limite où elle atteint son maximum, pour subir ensuite une brusque dépression et devenir nulle ; cette limite varie avec la nature du ferment, est toujours plus élevée que celle des ferments organisés et toujours inférieure à 100.

Comme pour les ferments figurés, la *concentration* du liquide et la présence des *produits de la fermentation* exerce une influence manifeste sur l'action des diastases qui finit par devenir nulle pour une richesse trop grande du liquide en principes dissous. C'est ainsi que l'action de la diastase salivaire s'arrête quand il y a 2 pour 100 de matière sucrée produite aux dépens de l'amidon, pour reprendre en étendant simplement d'eau (Kühne).

Les *agents chimiques* ont également, sur les ferments solubles une action souvent différente de celle qu'ils manifestent à l'égard des ferments figurés. Ainsi P. Bert a montré que l'*oxygène comprimé* qui tue ces derniers au bout d'un temps variable, n'a pas d'action sensible sur les ferments solubles.

M. Bouchardat a observé que certaines substances, telles que l'acide prussique, l'alcool, l'éther, le chloroforme, les essences de girofle, térébenthine, citron et moutarde, le sels de mercure, qui s'opposent à la fermentation alcoolique, n'ont pas d'influence manifeste sur la diastase de l'orge germé ; tandis que les acides citrique et tartrique qui ne font que légèrement entraver la fermentation alcoolique, annihilent complètement la diastase.

Wurtz a observé que la présence des *antiseptiques* habituels, tels que phénol, acide salicylique,

acide cyanhydrique, acide borique, n'a aucune influence sur la papaïne ; la pancréatine de M. Lœw offre des caractères analogues.

L'action du borax sur les ferments solubles a été étudiée par Dumas qui a trouvé que la solution de borax annihile l'action de l'invertine de la levûre de bière sur la saccharose, de la synaptase ou émulsine sur l'amygdaline, de la diastase sur la fécule, enfin de la myrosine sur le myronate de potassium, tandis que M. Schutzenberger a vu que de la levûre, mise en contact pendant trois jours avec une solution saturée de borax, peut encore provoquer la fermentation alcoolique.

§ 4 — *Mode d'action des diastases.*

Des flocons de fibrine introduits dans une solution de pepsine absorbent le ferment et ne le cèdent plus à l'eau avec laquelle on les lave ensuite. La fibrine est pour ainsi dite *teinte* avec la pepsine, comme on peut la teindre avec de la fuchsine, du carmin ou tout autre colorant. Ce fait, découvert par Wittich, a été étudié ensuite par Wurtz qui en a montré l'importance au point de vue de la théorie de l'action des diastases. Si l'on introduit ensuite la fibrine imprégnée de pepsine dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 1 ou 2 pour 100, elle se gonfle énormément, devient transparente, puis se dissout, transformée en syntonine ou acide-albumine beaucoup plus rapidement que par l'acide chlorhydrique seul; au bout de 3 ou 4 heures, le liquide ne renferme plus que de la peptone, produit ultime de l'action combinée de la pepsine et d'un acide sur la fibrine, et la pepsine et l'acide chlorhydrique sont remis en liberté.

De même, de la fibrine plongée dans une solution de papaïne, fixe celle-ci et peut être lavée à grande eau sans céder le ferment. Mise ensuite en digestion

à 40° dans de l'eau pure, elle se dissout à l'état de peptone, et la papaïne se trouve régénérée.

Dans ces deux réactions, comme dans celles que provoquent les autres diastases, et qui consistent toutes dans un phénomène d'hydratation, le ferment soluble paraît agir par catalyse; car il se retrouve en entier après la réaction, et son activité n'est arrêtée que par les produits engendrés qui augmentent la concentration des liqueurs. Le mécanisme de ces transformations est vraisemblablement le même que celui de la saccharification de l'amidon par les acides étendus : dans une première phase, l'acide forme avec l'amidon une combinaison passagère, sorte d'éther que l'eau dédouble dans une seconde phase en produisant du glucose et régénérant l'acide, comme le montrent les formules hypothétiques suivantes :

$$\underset{\text{Amidon.}}{C^6H^{10}O^5} + \underset{\text{A. chlorh.}}{HCl} = \underset{\text{Eth. chlorh.}}{C^6H^9O^4.Cl} + H^2O$$

$$C^6H^9O^4Cl + 2\,H^2O = \underset{\text{Glucose.}}{C^6H^{12}O^6} + HCl$$

Il se formerait de même, entre chaque diastase et le corps fermentescible, une combinaison analogue à celle de la fibrine avec la pepsine ou la papaïne, combinaison qui se dissocierait au contact de l'eau en donnant le ou les produits de fermentation dérivés par hydratation de la substance fermentescible, et régénérerait la diastase.

Le mode d'action des diastases dont nous venons de donner l'explication théorique, est généralement le même; c'est un dédoublement plus ou moins simple, toujours accompagné d'une hydratation, et dont le sens, toujours conforme à la constitution la plus simple du composé, est le plus souvent le même que celui de certains procédés chimiques qui donnent les mêmes résultats.

C'est ainsi que l'invertine de la levûre, comme les acides étendus à chaud, hydrate la saccharose et la

dédouble en glucose et en lévulose ; que la synaptase ou émulsine des amandes douces ou amères, que la myrosine de la moutarde blanche ou noire agissent sur les glucosides naturels en les dédoublant, par hydratation, en glucose et en un ou plusieurs autres principes, comme l'ébullition avec les acides ou les alcalis. Il est vrai que, dans certains cas, les produits obtenus peuvent différer entre eux par une molécule d'eau, tout en appartenant à la même famille naturelle; ainsi, tandis que l'ébullition avec les acides étendus transforme l'amidon en dextrine et glucose $C^6 H^{12} O^6$, la diastase de l'orge germé donne, au lieu de glucose, de la maltose $C^{12} H^{22} O^{11}$, corps sucré qui représente deux molécules de glucose moins une d'eau.

Un même ferment soluble peut agir sur divers composés chimiques, mais il semble que ces composés doivent avoir les mêmes fonctions et appartenir à la même famille; nous voyons, par exemple, divers glucosides de l'économie végétale, l'amygdaline, la salicine, l'arbutine, l'hélicine, le phloridzine, l'esculine, le daphnine, décomposés par la même diastase, l'émulsine des amandes. En revanche, la diastase de l'amidon et l'invertine du sucre de cannes ne peuvent pas se substituer l'une à l'autre.

Enfin il semble résulter des recherches de Wurtz sur la papaïne, que l'on retrouve à la fin d'une peptonification tout le ferment soluble employé, et que si la fermentation est entravée à un moment donné, cela tient, non pas à la disparition, à l'usure de la diastase, mais à la présence des produits de fermentation; et il suffit en effet d'étendre le liquide avec beaucoup d'eau pour voir le phénomène reprendre son cours. Le même fait a déjà été mentionné pour la diastase de l'amidon et paraît pouvoir être généralisé dans ses conséquences, à savoir que les ferments solubles ne perdent pas leur pouvoir spécifique à

mesure qu'ils l'exercent. D'ailleurs, comme le fait remarquer M. Schutzenberger, les dédoublements qu'ils provoquent se font plutôt avec dégagement qu'avec absorption de chaleur, puisque les mêmes dédoublements par hydratation s'obtiennent par l'action de l'acide sulfurique à petite dose, et que la même quantité d'acide peut agir indéfiniment. Ils n'exigent donc pas l'emploi, la consommation de forces vives ; et le principe de la conservation des forces ne s'oppose pas à l'idée d'une action indéfiniment prolongée. Cette manière de voir n'exclut d'ailleurs pas le fait possible, probable, démontré dans certains cas, d'une altération progressive du ferment à la suite de laquelle il perdrait son pouvoir spécifique; une semblable altération chimique peut accompagner la manifestation du pouvoir spécifique, ou se produire sans elle, d'une manière indépendante et sans en être la conséquence.

§ 5. — *Etude particulière des diastases.*

Dans cette étude des ferments solubles, nous laisserons de côté les questions relatives à leur composition, leurs propriétés physiques et chimiques, leur préparation, que nous avons décrites à un point de vue général, pour nous occuper seulement de l'origine de chaque ferment, de la réaction chimique qu'il détermine, enfin des conditions spéciales qui la favorisent. Ces ferments peuvent être divisés en deux classes, d'après leur origine animale ou végétale; mais comme certains d'entre eux sont communs aux deux règnes, nous n'insisterons pas sur cette classification qui nous exposerait à des redites.

I. Amylase.

L'amylase est le ferment soluble qui transforme l'amidon cuit en produits solubles et assimilables.

Elle existe dans le malt où elle se produit pendant la germination du grain, dans les tubercules en germination, dans les racines amylacées, dans les graines mûres de vesces, de lin, de chanvre; elle se trouve chez les animaux, dans les glandes salivaires, dans le pancréas et dans les produits de sécrétion, la salive et le suc pancréatique; le foie renferme également de l'amylase; enfin elle est sécrétée par l'*arpergillus glaucus* cultivé sur une solution de lactate de chaux additionnée de sels minéraux, et par le *penicillum glaucum* ensemencé sur un mélange d'empois d'amidon et de bouillon Liebig.

Si l'on n'envisage que le terme principal de la saccharification de l'amidon par la diastase du malt, la maltose, la formule de la réaction paraît très simple.

$$\underset{\text{Amidon.}}{C^{12}H^{20}O^{10}} + H^2O = \underset{\text{Maltose.}}{C^{12}H^{22}O^{11}}$$

Mais il se produit en réalité, à côté de la maltose, et primitivement, un isomère de l'amidon, la dextrine déjà indiquée par Musculus (1874), Schvarzer, Schultz et Mœrker, Payen. D'après les récents travaux de M. Bourquelot, cette dextrine se transforme par phases successives en maltose; la réaction consiste dans la dégradation de l'amidon, dans la soustraction répétée et successive, à la molécule amylacée, d'une molécule $C^{12}H^{20}O^{10}$ qui s'hydrate et passe à l'état de maltose suivant les formules suivantes :

$$n\ \underset{\text{Amidon.}}{C^{12}H^{20}O^{10}} + H^2O = (n-1)\ \underset{\text{Dextrine.}}{C^{12}H^{20}O^{10}} + \underset{\text{Maltose.}}{C^{12}H^{22}O^{11}} \quad \text{(1° phase.)}$$

$$(n-1)\underset{\text{Dextrine.}}{C^{12}H^{20}O^{10}} + H^{20} = (n-2)\ \underset{\text{Dextrine.}}{C^{12}H^{20}O^{10}} + C^{12}H^{22}O^{11} \quad \text{(2° phase.)}$$

$$(n-2)\underset{\text{Dextrine.}}{C^{12}H^{20}O^{10}} + H^{20} = (n-3)\ \underset{\text{Dextrine.}}{C^{12}H^{20}O^{10}} + C^{12}H^{22}O^{11} \quad \text{(3° phase.)}$$

La réaction se poursuit jusqu'à ce que la dextrine formée soit inattaquable par le ferment; à ce moment le pouvoir réducteur sur la liqueur cuprique

est de 51 à 52 pour 100 de ce qu'il serait si l'hydrate de carbone était intégralement transformé en sucre, soit environ moitié, ce qui peut être formulé :

$$n\,C^{12}H^{20}O^{10} + \frac{n}{2}H^{2}O = \frac{n}{2}C^{12}H^{20}O^{10} + \frac{n}{2}C^{12}H^{22}O^{11},$$

et correspond au pouvoir saccharifiant trouvé déjà par Payen (51 pour 100), et par Schultz et Mœrker (51 à 51,7 pour 100).

Il résulte des recherches de M. O'Sullivan qu'à 63° ou un peu au-dessous, l'amidon se dédouble en un mélange d'environ deux de maltose pour un de dextrine, d'après la formule :

$$3\,C^{12}H^{20}O^{10} + 2\,H^{2}O = 2\,C^{12}H^{22}O^{11} + C^{12}H^{20}O^{10}.$$

Entre 64° et 68-70°, la proportion est intervertie ; il se forme un de maltose pour deux de dextrine :

$$3\,C^{12}H^{20}O^{10} + H^{2}O = C^{12}H^{22}O^{11} + 2\,C^{12}H^{20}O^{10}.$$

Enfin, entre 68 et 70°, au voisinage immédiat de la température à laquelle la diastase est détruite par la chaleur, il ne se forme plus que un de maltose pour cinq de dextrine, et la réaction peut s'écrire :

$$6\,C^{12}H^{20}O^{1}O + H^{21} = C^{12}H^{22}O^{11} + 5\,C^{s2}H^{20}O^{10}.$$

L'action de la diastase de l'orgegermée atteint son maximum vers 63° et devient nulle à 85° ; celle de la ptyaline et de l'amylase du suc pancréatique est maxima vers 37 à 40°.

M. Bourquelot a constaté que si l'action prolongée de la chaleur entre 68-70°, pendant 12 heures, sur le diastase de l'orge germée faisait descendre la quantité de sucre produite de 52 à 28 pour 100, les premières phases de la réaction se succèdent cependant aussi rapidement qu'avec la diastase naturelle ; il en conclut, ou à un affaiblissement de la qualité du ferment, à une atténuation de son pouvoir hydra-

tant par la chaleur, ou à la présence, dans la diastase, de plusieurs ferments solubles qui sont détruits successivement par l'élévation de la température.

Nous avons vu précédemment les résultats obtenus par MM. Bouchardat et Dumas sur l'action des divers agents chimiques à l'égard de la diastase de l'orge germée ; on peut les résumer en disant que ceux qui sont toxiques pour les ferments figurés sont en général sans action sur les ferments solubles. La présence des principes extractifs de la pomme de terre, de la farine de seigle et surtout de l'acide carbonique serait éminemment favorable à la saccharification de l'amidon.

L'expérience a démontré qu'il est inutile d'augmenter au delà d'une certaine limite la quantité de diastase d'une liqueur à saccharifier ; la transformation n'est pas activée par un excès de ferment ; et cette règle est générale pour tous les ferments solubles.

Le suc pancréatique est infiniment plus énergique que la salive; il agit presque instantanément sur l'amidon cuit ; aussi est-ce dans l'intestin grêle que s'accomplit la principale digestion des matières amylacées, chez l'homme et les animaux.

Si la salive et surtout le suc pancréatique sont les agents de la digestion de l'amidon dans le tube digestif, l'amylase du foie agit sur le glycogène ou amidon animal qui se forme dans cet organe aux dépens des sucres absorbés par le système porte, et s'y accumule pendant la digestion (Cl. Bernard).

Ajoutons enfin que les substances saccharifiables par l'amylase sont l'amidon cuit et non l'amidon crû, l'amidon soluble, la dextrine et le glycogène ; et résumons le rôle important des diastases par ces mots de Cl. Bernard : « La digestion des fécu-
» lents consiste dans leur transformation en matières
» solubles et assimilables, solubles afin de pouvoir
» circuler d'un point à l'autre de l'organisme. La di-

» gestion est donc le prologue de l'acte nutritif.
» Partout où des matières féculentes doivent alimen-
» ter un organisme, on retrouvera cette préparation
» préalable. Or, tous les organismes, dans le règne
» végétal aussi bien que dans le règne animal, em-
» ploient les féculents pour leur entretien, tous, par
» conséquent, digèrent ces substances dans le sens
» du mot. »

2. Sucrase.

La sucrase, ferment inversif ou invertine, est le ferment soluble qui dédouble le sucre cristallisé, après hydratation, en glucose et lévulose.

$$\underset{\text{Saccharose.}}{C^{12}H^{22}O^{11}} + H^2O = \underset{\text{Glucose.}}{C^6H^{12}O^6} + \underset{\text{Lévulose.}}{C^6H^{12}O^6}$$

Dans cette réaction, nommée *inversion* du sucre, la saccharose, qui ne réduit pas la liqueur de Fehling et qui dévie à droite le plan de polarisation, se transforme en un mélange lévogyre de deux sucres réducteurs : l'un, la glucose, qui dévie à droite, l'autre, la lévulose ou sucre de fruits, qui dévie à gauche ; l'inversion se produit dans les mêmes conditions, quand on chauffe à 62° une solution de sucre acidulée par un acide minéral et même organique.

La sucrase existe dans la betterave en germination, dans la canne à sucre en fleurs, c'est-à-dire dans les végétaux au moment où ils utilisent leur réserve de sucre ; il en est d'ailleurs de même de l'amylase à l'égard de l'amidon. La sucrase est sécrétée aussi par la levûre de bière qui ne détermine la fermentation alcoolique qu'après l'inversion de la saccharose, et par les glandes de l'intestin (Cl. Bernard) ; elle se trouve aussi dans le foie et dans les produits de sécrétion de l'*Aspergillus glaucus* et du *Pénicillium glaucum* cultivés sur une solution de sucre.

Pas plus que l'amidon, la saccharose ne peut être absorbée et assimilée sous sa forme initiale, bien qu'elle soit soluble. Comme la fécule, elle doit être digérée, et les produits de cette digestion sont la glucose et la lévulose; aussi tandis qu'elle passe dans les urines après son injection dans les veines, si on l'injecte dans le système de la veine porte, elle rencontre dans le foie un ferment qui lui fait subir l'inversion assimilatrice. L'absorption de la saccharose chez les animaux est dès lors facile à expliquer; une partie, et la plus forte peut-être, est absorbée en nature à travers les parois de l'estomac, et passe par le foie ou elle est transformée ; l'autre partie est intervertie déjà par l'acidité du suc gastrique, mais surtout par le ferment du tube intestinal, et passe dans le système capillaire de la veine porte à l'état de glucose et de lévulose.

L'interversion du sucre est, au moins pendant les premières heures, proportionnelle au temps : ce qui prouve bien que la diastase ne se détruit pas et ne s'use pas en agissant ; puis la loi de proportionnalité avec le temps cesse de se vérifier, et il se produit un retard dans l'inversion, retard qui semble dépendre, comme facteur principal, de l'augmentation des produits de la réaction dans la liqueur, et comme facteur moins important, de la diminution de la quantité de sucre cristallisable.

Le maximum d'activité du ferment inversif se manifeste vers 56 degrés et, comme pour l'amylase, il correspond à une certaine proportion du ferment par rapport au sucre, au delà de laquelle il n'augmente plus.

3. Présure.

La présure est le ferment coagulant de la caséine que sécrètent, à l'exclusion de la pepsine, les glandes

de l'estomac du jeune mammifère en lactation ; elle est sécrétée également par certains microbes de la caséine. Cette présure détermine à une température convenable la coagulation du lait, sans pouvoir s'attaquer au coagulum qu'elle a formé ; elle manifeste son action même dans un milieu neutre.

Le caillot est d'autant plus consistant et se forme d'autant plus vite à une température déterminée, que la proportion de présure est plus élevée ; et la durée de la coagulation est en raison inverse de la quantité de présure, quand la température reste bien constante. Quand on exagère la dose de présure, le caillot reste mou et ne se colle plus aux parois du vase. Le maximum d'action de la présure a lieu vers 41° ; à cette température, le lait additionné de 1/000 de présure se coagule en 6 minutes 06, tandis qu'entre 30 et 37°, températures extrêmes entre lesquelles se font les coagulations industrielles, la durée de la coagulation est de 8 minutes 15 à 6 minutes 55.

L'action de la présure est activée par l'acidité du lait ; elle est gênée au contraire par l'alcalinité du liquide, par l'addition de sels de métaux alcalins, notamment le borax et le carbonate de soude, tandis que les sels des métaux terreux augmentent la coagulabilité du lait. L'action du borax tient à deux causes ; par son acide borique, il paralyse l'action des présures que sécrètent les ferments de la caséine, et par sa base il neutralise l'acide lactique produit par le ferment lactique qui se développe dans le lait.

4. Pepsine et caséase.

Les matières albuminoïdes exigent, pour être assimilées, d'être transformées au préalable, par un phénomène d'hydratation, en albuminose ou peptone dialysable ; cette hydratation se produit dans l'économie animale sous l'influence de la pepsine et de la

caséase (Duclaux), dans l'économie végétale au contact de certains ferments solubles spéciaux, dont la papaïne nous offre un exemple caractéristique.

Pepsine. — La pepsine apparaît dans l'estomac du jeune mammifère dès qu'il sort de la période de lactation, de telle sorte que l'on ne trouve plus de présure, mais de la pepsine, dans l'estomac des êtres qui ne boivent plus de lait à l'état adulte ; Brücke en a reconnu la présence dans le sang, les muscles et l'urine ; cette pepsine n'agit sur les matières albuminoïdes que dans un milieu acide, tel que l'est naturellement le suc gastrique ; la réaction acide du milieu peut être due à l'acide chlorhydrique qui constitue l'élément acide du suc gastrique normal, ou à l'acide lactique qui prend naissance dans l'estomac aux dépens des matières sucrées de l'alimentation, par une fermentation lactique préalable.

C'est au contact de l'acide chlorhydrique que la pepsine possède son activité maxima : elle agit encore cependant en présence des acides azotique, sulfurique, phosphorique, acétique, formique, mais avec moins d'énergie, surtout avec les acides organiques ; elle reste sans influence dans un milieu neutre ou alcalin.

La proportion d'acide chlorhydrique nécessaire pour obtenir le maximum d'effet est de 1/1000 pour la fibrine, de 1,7/1000 pour l'albumine cuite ; l'action de l'acide nitrique, plus lente, atteint son maximum pour 1,5 à 2 pour 1000.

La température la plus favorable est comprise entre 37 et 40 degrés, bien que chez les animaux à sang froid elle agisse entre 0 et 15°, et que l'on ait vérifié la peptonification de l'albumine coagulée à 0°, par le produit de la macération de la muqueuse stomacale de la grenouille, du brochet et de la truite dans l'eau contenant 0, 5 pour 1000 d'acide chlorhydrique. Suivant M. Petit, l'action de la pepsine est quatre fois plus rapide à 50° qu'à 40°.

La peptonification des matières albuminoïdes exige, comme la saccharification de l'amidon et l'intervention de la saccharose, comme d'ailleurs d'une manière générale l'action de tous les ferments solubles, une certaine proportion de pepsine au delà de laquelle la transformation ne marche pas mieux (Brüche). Quant aux peptones formées, elles agissent comme tous les produits de fermentation, c'est-à-dire ralentissent la digestion de l'albumine qui reprend avec une activité nouvelle quand on étend le liquide avec de l'eau acidulée.

Sans vouloir passer en revue toutes les théories qui ont été émises sur le mode d'action de la pepsine, nous nous contenterons d'indiquer les phases successives par lesquelles passent les matières albuminoïdes pour arriver à l'état de peptone ; elles se dissolvent d'abord sous l'influence de l'acide chlorhydrique et se transforment en acide-albumine ou syntonine ; puis au contact de la pepsine l'acide-albumine passe peu à peu à l'état de peptone. Mais en réalité le phénomène n'est pas aussi simple qu'il paraît d'après l'explication que nous en donnons, et l'expérience montre qu'on doit admettre, entre la syntonine et la peptone véritable, un ou plusieurs produits intermédiaires dont l'existence est passagère et qu'une action prolongée du ferment convertit en peptone ; ce sont les *propeptones* de Schmidt-Mulheim, *l'hémi-albuminose* de Kühne.

Le produit final, peptone ou albuminose, présente une composition centésimale très voisine de celle des matières albuminoïdes qui lui ont donné naissance ; elle renferme un peu moins de carbone et d'azote que ces dernières, dont elle dérive, comme nous l'avons dit, et comme il résulte des expériences d'Henninger et de Hofmeister, par une simple hydratation : en effet, Henninger, en deshydratant la peptone par l'anhydride acétique, a obtenu un corps très voisin de la syntonine, tandis que Hof-

meister a pu transformer l'albuminose de fibrine chauffée à 140°-160° en une substance analogue à l'albumine.

La rapidité de la digestion stomacale des matières albuminoïdes varie pour chacune d'elles ; ainsi la fibrine est plus vite digérée que la myonine, et celle-ci plus vite que l'albumine d'œuf ; la fibrine cuite est peptonisée plus lentement que la fibrine crue ; c'est l'inverse qui a eu lieu pour l'albumine ; la caséine résiste le plus longtemps à l'action du suc gastrique qui la coagule d'abord ; c'est encore elle qui fournit le plus fort résidu de *dyspeptone* insoluble et non assimilable.

Casease. — Sous le nom de caséase, M. Duclaux (1) réunit les ferments solubles que sécrètent les microbes du lait du genre tyrothrix et le pancréas, et qui agissent dans un milieu alcalin sur la caséine et les autres matières albuminoïdes en les dissolvant d'abord et les hydratant ensuite, de façon à les transformer en peptones. Casease (Duclaux), pancréatine (Cl. Bernard), et trypsine (Kühne), sont donc synonymes.

Outre sa production par le pancréas, la caséase est sécrétée par les ferments de la caséine, *tyrothrix geniculatus* et *scaber*.

Le lait stérilisé, ensemencé avec un des ferments de la caséine du genre tyrothrix, se coagule d'abord sous l'influence de la présure qu'il sécrète ; puis le coagulum se redissout et se transforme en un liquide opalescent qui ne contient plus de caséine, mais de la peptone. Ce même lait additionné de suc pancréatique frais ou d'un fragment de pancréas très frais se transforme rapidement, sans coagulation apparente, à la température de 25 degrés et en quelques heures, en un liquide opalescent presque limpide, que la présure ne coagule plus et qui ne contient plus que de la peptone.

(1) Duclaux, *le Lait.*

La caséase du lait agit à toutes les températures, bien qu'elle préfère celle de 30 à 35° : c'est ce que prouve la maturation des fromages dans les caves à basse température, comme celles de Roquefort, phénomène qui consiste essentiellement dans la peptonification du caseum qui se liquéfie sous l'influence exclusive de la caséase sécrétée par les espèces microscopiques qui sont utilisées dans la fabrication.

La caséase agit surtout, comme nous l'avons dit, dans un liquide alcalin; l'addition d'un acide entrave son action. La transformation qu'elle fait subir aux matières albuminoïdes peut être envisagée comme se passant en deux phases successives; dans la première, l'albumine coagulée ou non se transforme en albuminate alcalin soluble ; puis, dans la seconde, cet albuminate passe à l'état de peptone.

5. Papaïne.

La papaïne est le ferment peptonigène trouvé dans le latex du Carica papaya par MM. Wurtz et Bouchut ; comme les précédents, elle hydrate et dissout les matières albuminoïdes, fibrine, chair musculaire, albumine cuite, gluten, etc.; elle coagule d'abord le lait et redissout ensuite la caséine précipitée ; cette digestion se produit en solution alcaline, acide et même neutre, en produisant tous les termes de passage entre l'albumine et la peptone. Les antiseptiques, acide cyanhydrique, acide borique, phénol, n'empêchent pas l'action de la papaïne.

6. Fermentation des glucosides.

Le ferment qui agit le plus généralement et le plus énergiquement sur les glucosides est la synaptase ou émulsine des amandes douces et amères ; dans le cas

particulier, les principes sur lesquels agit l'émulsine subissent encore un phénomène d'hydratation, avec dédoublement consécutif en divers produits spéciaux pour chaque principe, mais parmi lesquels se trouve toujours la glucose; de là le nom de *glucosides* donné à ces corps, qui doivent être envisagés comme des éthers de la glucose.

Comme la plupart des ferments solubles, l'émulsine peut être remplacée par des agents chimiques qui produisent le même effet sur les glucosides : telle par exemple l'ébullition prolongée avec les acides étendus.

Les décompositions auxquelles l'émulsine donne naissance ont lieu d'après les équations suivantes, qui en donnent la nature :

$$\underset{\text{Amygdaline.}}{C^{20}H^{27}AzO^{11}} + 2H^2O = \underset{\text{Glucose.}}{2C^6H^{12}O^6} + \underset{\text{Hydrure de benzoyle.}}{C^7H^6O} + \underset{\text{Ac. prussiq.}}{CAzH}$$

L'amande amère renferme à la fois, mais contenues dans des cellules distinctes et séparées, l'amygdaline et l'émulsine; ces deux corps, mis en contact par la trituration de l'amande avec de l'eau, réagissent alors l'un sur l'autre et dégagent, à ce moment seulement, de l'acide prussique.

$$\underset{\text{Salicine.}}{C^{13}H^{18}O^7} + H^2O = \underset{\text{Glucose.}}{C^6H^{12}O^6} + \underset{\text{Saligénine.}}{C^7H^8O^2}$$

$$\underset{\text{Chlorosalicine.}}{C^{13}H^{17}ClO^7} + H^2O = \underset{\text{Glucose.}}{C^6H^{12}O^6} + \underset{\text{Chlorosaligénine.}}{C^7H^7ClO^2}$$

$$\underset{\text{Hélicine.}}{C^{13}H^{16}O^7} + H^2N = \underset{\text{Glucose.}}{C^6H^{12}O^6} + \underset{\text{Hydrure de salycile.}}{C^7H^6O^2}$$

$$\underset{\text{Arbutine.}}{C^{12}H^{16}O^7} + H^2O = \underset{\text{Glucose.}}{C^6H^{12}O^6} + \underset{\text{Hydroquinone.}}{C^6H^6O^2}$$

$$\underset{\text{Phlorizine.}}{C^{21}H^{24}O^{10}} + H^2O = \underset{\text{Glucose.}}{C^6H^{12}O^5} + \underset{\text{Phlorétine.}}{C^{15}H^{14}O^5}$$

$$\underset{\text{Esculine.}}{C^{21}H^{24}O^{13}} + 3H^2O = \underset{\text{Glucose.}}{2C^6H^{12}O^6} + \underset{\text{Esculétine.}}{C^9H^6O^4}$$

$$C^{31}H^{34}O^{19} + 2\,H^2O = 2\,C^6H^{12}O^6 + C^{19}H^{14}O^9$$
Daphnine. Glucose. Daphnétine.

L'émulsine a son action maxima entre 30 et 40° ; elle peut cependant être chauffée jusqu'à 80° sans perdre son pouvoir spécifique ; elle n'est pas influencée par les acides et les alcalis à petites doses, mais par la putréfaction qui peut la détruire quand elle est suffisamment avancée.

7. Myrosine.

La moutarde blanche et noire, et en genéral les graines de crucifères, renferment un nouveau ferment soluble, le myrosine, qui, en réagissant au contact de l'eau sur le myronate de potassium contenu dans la moutarde noire, le décompose, après hydratation, en glucose, bisulfate de potassium et sulfocyanate d'allyle :

$$C^{10}H^{18}AzKS^2O^9 + H^2O = C^6H^{12}O^6 + CSAzC^3H^5 + SO^4KH$$
Myronate de potasse. Glucose. Sulfocyanate d'allyle. Bisulfate de potassium.

C'est à ce sulfocyanate ou essence de moutarde que le mélange de farine de moutarde et d'eau qui constitue le sinapisme doit son odeur et sa saveur brûlante et ses propriétés rubéfiantes.

L'action de la myrosine est maximum vers 40°, et détruite par une température plus élevée : elle est neutralisée par les acides organiques à un certain degré de dilution, mais peut reprendre son activité en étendant de beaucoup d'eau.

Il existe d'*autres fermentations* diastasiques analogues, que nous nous contenterons de citer sans insister sur chacune d'elles.

Le tannin naturel contenu dans diverses plantes astringentes autres que l'écorce de chêne, le sumac, la noix de galle, paraît être un glucoside de l'acide tannique en lequel il se dédoublerait avec production

de glucose sous l'influence d'un certain ferment végétal peut-être analogue à la pectase, ou encore des acides étendus ; quant à la transformation de l'acide tannique en acide gallique qu'on considérait, suivant Strecker, comme une décomposition du même genre que celle des glucosides, donnant à la fois de la glucose et de l'acide gallique, il résulte des recherches de Schiff qu'elle consiste en un simple dédoublement après hydratation, la molécule de tannin donnant deux molécules d'acide gallique.

$$\underset{\text{Tannin.}}{C^{14}H^{10}O^{9}} + H^{2}O = \underset{\text{Ac. gallique.}}{2\,C^{7}H^{6}O^{5}}$$

Beaucoup de matières colorantes végétales existent naturellement sous forme de glucosides et se dédoublent rapidement en présence de l'eau sous l'influence de ferments solubles contenus dans la plante ; c'est ainsi que l'alizarine et les autres matières colorantes contenues à l'état de glucosides solubles dans la racine de garance (rubian, acide rubérythrique), sous l'influence de l'érythrosyne, ferment soluble contenu également dans la racine, et au contact de l'eau, se décomposent avec production de sucre et de matière colorante alizarine ou purpurine qui reste insoluble.

Il existe d'après Schunk, dans le pastel ou *isatis tinctoria*, et probablement aussi dans les autres plantes susceptibles de fournir de l'indigo (*indigofera* etc.), un glucoside incolore, l'*indican*, susceptible de se dédoubler, sous certaines influences, en indigotine et en une matière spéciale sucrée, l'*indiglucine*.

$$\underset{\text{Indican.}}{C^{26}H^{31}AzO^{17}} + 2\,H^{2}O = \underset{\text{Indiglucine.}}{C^{6}H^{10}O^{6}} + \underset{\text{Indigotine.}}{C^{8}H^{5}AzO}$$

Cette décomposition se produit sous l'influence des acides dilués tels que les acides sulfurique, oxalique, tartrique, et encore pendant la putréfaction sous l'eau des plantes à indigo.

Les infusions de graines de nerprun, conservées pendant quelque temps, subissent une fermentation qui dédouble les glucosides colorants solubles en glucose et en un pigment insoluble; la même transformation s'effectue par l'ébullition avec les acides étendus.

Les acides biliaires, glycocholique et taurocholique, sont décomposés par l'ébullition prolongée avec les acides ou les bases en glycocolle et acide cholalique, taurine et acide cholalique.

$$C^{26}H^{43}AzO^{6} + H^{2}O = C^{24}H^{40}O^{5} + C^{2}H^{5}AzO^{2}$$

Ac. glycocholique. Ac. cholalique. Glycocolle.

$$C^{26}H^{45}AzSO^{7} + H^{2}O = C^{24}H^{40}O^{5} + C^{2}H^{7}AzSO^{3}$$

Ac. taurocholique. Ac. cholalique. Taurine.

Cette décomposition se produit facilement et spontanément dans la bile abandonnée à elle-même, sous l'influence de la putréfaction.

Un phénomène analogue se passe dans l'urine des herbivores dont l'acide hippurique se dédouble en acide benzoïque et glycocolle.

$$C^{9}H^{9}AzO^{3} + H^{2}O = C^{7}H^{6}O^{2} + C^{2}H^{5}AzO^{2}$$

Ac. hippurique. Ac. benzoïque. Glycocolle.

Enfin, suivant M. Frémy, la pectose et la pectine des tissus végétaux, fruits, racines, sont accompagnées d'un ferment tantôt soluble, tantôt insoluble, la pectase, qui les transforme successivement en acide pectique et métapectique, et fait passer les fruits de l'état de fruit mûr à celui de fruit blet; en outre la pectine des sucs naturels des fruits, sous l'influence de la pectase, passe à l'état d'acide pectique et pectosique, insolubles et gélatineux, et transforme le suc en gelée. Suivant l'auteur, la fermentation pectique s'effectue vers 30-35 degrés, et se trouve arrêtée par l'ébullition. Ces transformations qui s'acompagnent probablement de phénomènes d'hydratation, ont reçu le nom de fermentation pectique (Frémy).

CHAPITRE III

MOISISSURES

Les moisissures n'agissent qu'exceptionnellement comme ferment ; mais à cause de l'importance de leur rôle dans les métamorphoses régressives de la matière organisée, nous ne pouvons en omettre l'étude, que nous ferons d'ailleurs très succincte.

§ 1. — *Propriétes générales et composition des moisissures*

Les *Moisissures* ou *Mucédinées* sont de véritables végétaux microscopiques essentiellement constitués par un fin mycélium ramifié (fig. 6, 7, 8), duquel partent de nombreux filaments simples ou subdivisés, se renflant à leur extrémité en masses sporifères et s'élançant dans l'air au dessus des liquides à la surface desquels ils vivent et se développent.

Leur forme variée a permis de les classer en diverses espèces, telles que : *aspergillus* (a. niger, a. glaucus), *pénicillium* (p. glaucum), *mucor* (m. mucedo, m. racemosus), *oïdium* (o aurantiacum, o. albicans), *urédo*, etc.

Fig. 7.

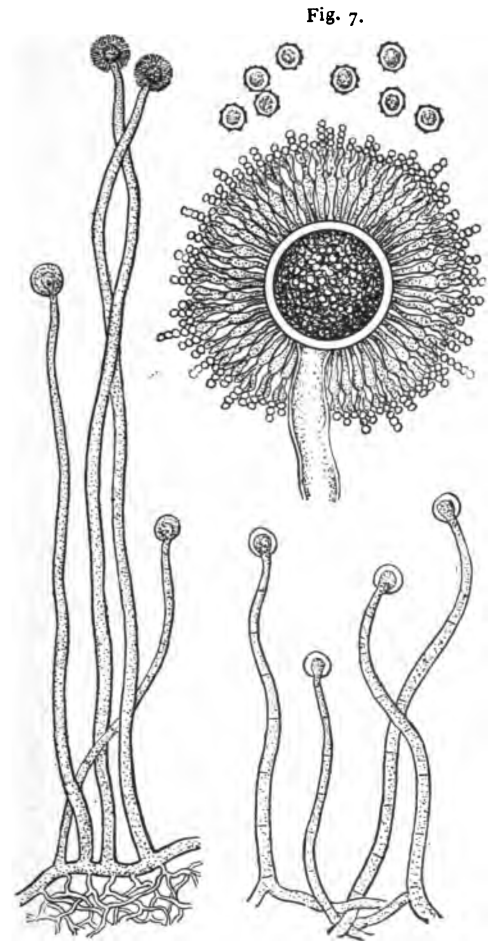


Fig. 6. Aspergillus niger. Fig. 8.

La composition immédiate des moisissures n'est pas exactement connue pour chaque espèce en particulier ; les analyses faites jusqu'à présent n'ont, en

effet, porté que sur des mélanges de moisissures développées à la surface de liquides contenant des sels nutritifs, du sucre et de la gélatine (ou du chlorure ammonique), et non sur le produit de cultures pures. Les chiffres qui suivent représentent la composition moyenne d'un mélange d'*aspergillus niger*, de *penicillium* et de *mucor mucedo*, récolté par Mme Nadina Sieber.

	Moisissures sur sucre et gélatine.	Moisissures sur sucre et sel ammoniac.
Eau	85,0 %	85.7 %
Mat. solubles dans l'éther	18,7	11,2
— — l'alcool	6,9	3,4
Cellulose	39,6	55,8
Albuminoïdes	29,9	28,9
Cendres	4,9	0,7
	100,0	100,0

L'origine de ces Mucédinées sur les liquides ou substances où on les rencontre dans la nature est bien facile à établir. Prenons, par exemple, le penicillium glaucum qui forme des touffes verdâtres ou bleuâtres à la surface des matières organiques en décomposition, telles que pain moisi, vieux fromage, fruits acides, arbres et plantes en décomposition ; il est tellement répandu à la surface de la terre que, comme le dit M. Duclaux « il n'y a pour ainsi dire pas un mètre carré qui n'en renferme quelques pieds ». Chacun de ces pieds porte en un paquet terminal des milliers de spores (fig. 7.) qui se détachent avec la plus grande facilité sous l'influence du moindre souffle, et sont mis en suspension dans l'atmosphère; de là elles sont disséminées de tous côtés, vont se déposer sur les corps favorables à leur développement, et deviennent chacune un nouveau végétal produisant encore des milliers de spores nouvelles ; il est donc bien naturel de voir les moisissures se multi-

plier à l'infini sur tous les corps abandonnés au contact de l'air atmosphérique, et leur transport par les courants gazeux de l'atmosphère suffit certainement pour expliquer leur propagation, sans qu'il soit nécessaire de recourir à l'intervention des insectes.

§ 2. — *Nutrition des moisissures.*

Il en est des moisissures comme de tous les êtres vivants, quel que soit le rang qu'ils occupent dans l'échelle ; elles exigent pour leur développement des aliments convenables et certaines conditions de milieu qu'il est important de déterminer.

Les moisissures ne vivent que dans les milieux acides, souvent fortement acides, par exemple contenant 40 grammes et plus d'acide tartrique au litre, pourvu que la réaction ne soit pas due à un acide minéral fort, tel que les acides chlorhydrique, sulfurique, azotique. Elles exigent des aliments hydrocarbonés (sucre), azotés (gélatine, albumine, sels ammoniacaux) et salins (potasse, acide phosphorique, magnésie, etc.); on comprendra facilement le rôle de chacun de ces éléments dans la formation des tissus de la plante, en se reportant à l'étude de l'alimentation de la levure de bière.

M. Raulin est arrivé, après des tâtonnements répétés, à préparer un milieu qui, outre le sucre, ne contient que des éléments minéraux purs, et cependant plus favorable au développement d'une mucédinée que les milieux d'origine organique les mieux appropriés et sur lesquels elle se développe spontanément ; la moisissure qu'il cultive ainsi, d'ailleurs sans mélange d'espèces étrangères, est l'*aspergillus niger* qui pousse très facilement sur le pain vinaigré, les tranches de citron et en général sur les fruits et liqueurs acides. Des spores pures de cet aspergillus, ensemencées dans le liquide en question contenu

dans des cuvettes plates, à large surface, chauffées à 35 degrés et à l'air humide (60° de l'hygromètre de Saussure), ont fourni, en deux récoltes successives faites le troisième et le sixième jour, un poids total de 25 grammes de mucédinée humide; la production est d'ailleurs constante en poids, à 1/20 de sa valeur, dans les mêmes conditions d'expérimentation.

Le liquide employé par M. Raulin possède la composition suivante:

Eau...............	1.500 gr.	Anhydride sulfuriq.	0,25
Sucre candi........	70	Silice..............	0,03
Acide tartrique....	10	Potasse (K^2O)......	0,4
Ammoniaque......	2	Magnésie..........	0,2
Anhydride phosphorique...........	0,4	Oxyde de zinc.....	0,04
		Oxyde de fer......	0,03

On est en droit de conclure, de la remarquable expérience de M. Raulin, que chaque moisissure paraît exiger, pour atteindre son maximum de développement, un milieu de composition spéciale et toujours constante.

La nécessité des divers éléments de ce milieu est démontrée par les résultats suivants, dus au même expérimentateur: la suppression de la potasse fait tomber la récolte de l'aspergillus à 1/25, celle de l'ammoniaque à 1/153, celle de l'acide phosphorique à 1/182, celle de l'acide sulfurique à 1/25, celle de l'oxyde de zinc à 1/10. Ces résultats n'ont rien d'étonnant *a priori*, en ce qui concerne les premiers éléments que nous savons être d'excellents engrais pour les végétaux plus élevés; il n'en est plus de même de l'oxyde de zinc, dont le rôle dans le développement de l'aspergillus est aussi surprenant que bien démontré: sous une proportion infinitésimale, il exerce sur la fructification du végétal une telle influence, que sa suppression fait tomber le poids de mucédinée nouvellement développée à 1/10, c'est-à-dire de 25 gr. à 2 gr. 5; cette quantité de 0,04

d'oxyde de zinc produit donc une plus-value dans la récolte de 22 gr. 5, et par suite provoque la formation d'un poids de plante 562 fois supérieur au sien.

§ 3. — *Conditions d'action des moisissures.*

Essentiellement aérobies, les moisissures vivent, comme les champignons pourvus d'un mycélium, à la surface des milieux nutritifs qu'elles transforment, aux dépens de l'oxygène de l'air, en produits de combustion complète; leur rôle à la surface du globe consiste en effet principalement à réduire en particules minérales les produits de la putréfaction engendrés par les bactéries qui apparaissent avant elles.

Soustraites brusquement au contact de l'air par submersion dans les liquides à la surface desquels elles se développaient primitivement, elles perdent leur action comburante totale et acquièrent faiblement, mais nettement, le pouvoir ferment (voir p. 117), tandis que leur vie devient languissante et cesse souvent brusquement. Leur protoplasma, de fluide qu'il était, est devenu granuleux; condensé au centre des cellules provenant de la subdivision du tube mycélien par cloisonnement transversal, il laisse un espace vide entre lui et la membrane d'enveloppe, et les cellules devenues libres se séparent (fig. 9, 10, 11).

Nous avons dit précédemment que les spores de moisissures ne se développent bien que dans les milieux acides; et la preuve que l'acide tartrique du liquide de Raulin intervient dans le développement de l'aspergillus comme acide et pas seulement comme aliment ternaire, c'est qu'on peut le remplacer par un acide minéral, l'acide sulfurique par exemple; seulement il faut diminuer notablement la dose de ce dernier; dans la proportion de 1 pour 1000 il remplace bien l'acide organique, tandis qu'à la dose de 1/500 il

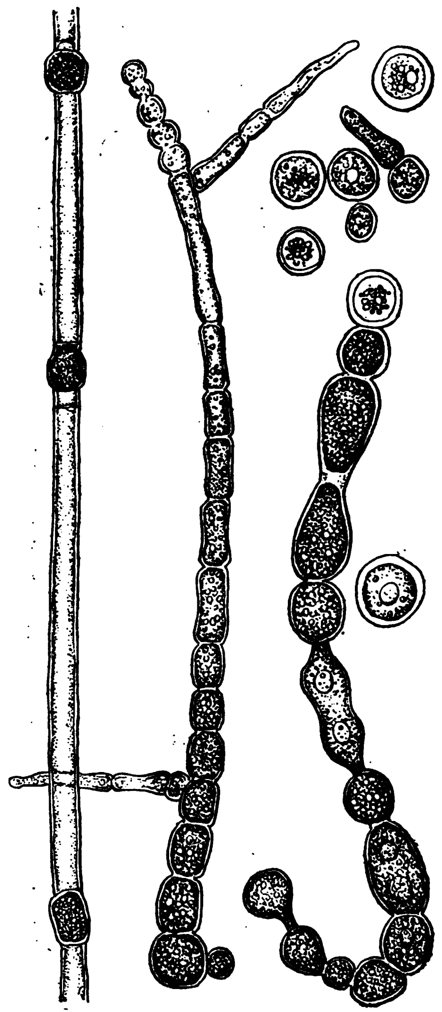


Fig. 9. Fig. 10. Fig. 11.

Fig. 9. *Mucor racemosus*, filament fertile, aérien, avec masses protoplasmiques granuleuses. — Fig. 10. *Mucor vivant submergé.* — Fig. 11. filament grossi et divisé en cellules cloisonnées qui prennent la forme sphérique et deviennent libres.

tue la moisissure. Si l'on supprime l'acide, ou encore si on le neutralise par un alcali, le développement de la moisissure ne se produit pas ou s'arrête, et le liquide est envahi par une multitude de bactéries sur lesquelles l'aspergillus reprend le dessus dès qu'on restitue au liquide son acidité primitive.

Ces résultats expliquent pourquoi les spores des moisissures répandues en quantités énormes dans l'atmosphère, ne peuvent se développer dans l'organisme animal imprégné de liquides alcalins, et comment les champignons parasites de l'homme, ceux qui causent les affections cutanées connues sous les noms d'herpès tonsurant, de mentagre, de teigne, ne peuvent se développer que sur la peau dont les liquides de sécrétion sont acides.

Mais, de même que les moisissures submergées changent de vie et agissent comme ferments alcooliques, de même elles peuvent être modifiées par des cultures successives dans des liquides de moins en moins acides, puis alcalins ; et alors que les spores de la mucédinée primitive, injectées dans le sang, y meurent rapidement, celles du végétal modifié par la culture en liquide alcalin se développent et produisent des altérations spéciales des tissus animaux

Nous avons vu quels sont les aliments nécessaires aux moisissures; parmi les composés minéraux elles ont quelquefois besoin de fer, de silice, de chaux. Il en est d'autres au contraire qui leur sont nuisibles, même à dose infinitésimale; ainsi, l'addition au liquide nutritif de 1/1.600.000 de nitrate d'argent arrête brusquement la végétation qui ne peut même commencer ou continuer dans un vase d'argent, alors que les réactifs chimiques les plus sensibles ne peuvent déceler une trace de métal dans le liquide ; le sublimé corrosif à la dose de 1/500,000, le bichlorure de platine à celle de 1/8.000 le sulfate de cuivre dans la proportion de 1/240, tuent également l'aspergillus Raulin).

La plupart des moisissures paraissent absolument indifférentes à l'action de la lumière, bien que certaines espèces la recherchent certainement. Il en est de même de la chaleur qui a une influence manifeste sur les mucédinés, comme d'ailleurs sur tous les organismes ; on peut dire que leur vitalité s'exerce entre deux limites de température, l'une, inférieure, qui peut être très basse (*penicillum glaucum* vit à 2-3° dans les caves de Roquefort) ; et l'autre, supérieure, assez élevée, puisque la plupart de leurs spores ne périssent qu'au dessus de 100° et souvent plus haut encore (120° pour les spores de l'*oïdium aurantiacum* de la mie de pain).

Au contact de l'eau, les moisissures, comme les levûres, sont tuées à 55° (Miquel).

Le développement maximum du végétal se produit à une température intermédiaire comprise en général entre 30 et 40° (34° pour l'*aspergillus niger*).

Il est inutile d'insister sur la nécessité absolue de l'eau pour la fructification des moisissures.

§ 4. — *Mode de combustion des composés organiques ternaires par les moisissures. — Applications.*

Si nous étudions avec plus d'attention les transformations profondes qu'éprouvent les matières organiques ternaires, sous l'influence des mucédinées, nous allons voir que ces modifications se produisent par phases successives, correspondant chacune à un état moléculaire nouveau de la matière primitive, pour aboutir finalement à une combustion complète avec production d'éléments minéraux.

De toutes les moisissures, celles qui ont été observées avec le plus de soin dans leur action destructive sont l'*aspergillus niger* et le *penicillium glaucum*.

L'action de l'*aspergillus* sur les diverses substances a été étudiée en prenant comme liquide de culture le

liquide de Raulin sur lequel on développait une couche florissante de moisissure ; on remplaçait ensuite le liquide par la solution aqueuse du corps à étudier.

Le *sucre de cannes* est d'abord hydraté et transformé en glucose par une diastase sécrétée par l'aspergillus ; puis il se forme de l'acide oxalique, d'où une augmentation progressive de l'acidité du liquide ; quand le sucre a presque disparu, l'acide oxalique est brûlé à son tour, et l'on obtient finalement un liquide neutre. Cette combustion de l'acide oxalique est du même ordre que celle de l'acide tartrique contenu dans le liquide de Raulin, lequel finit également par devenir neutre, quand on y fait fructifier une mucédinée.

L'*empois d'amidon* se liquéfie d'abord, puis est saccharifié par une nouvelle diastase ; le sucre produit, maltose et glucose, subit ensuite les transformations que nous venons de décrire.

La *glycérine,* la *mannite,* le *lactose* sont également brûlées complètement, avec production intermédiaire d'acide oxalique.

L'*alcool* est oxydé sans formation d'acide acétique, mais toujours avec arrêt momentané à l'état d'acide oxalique ; l'*acide acétique* est brûlé, mais donne tout d'abord beaucoup d'acide oxalique.

La *cellulose* pure résiste à l'action de l'aspergillus ; elle est complètement détruite si elle est mélangée ou imprégnée d'une substance nutritive.

En résumé, l'aspergillus détruit complètement toutes les substances ternaires sur lesquelles il se développe ; il puise son énergie dans l'oxygène de l'air et provoque des phénomènes d'oxydation d'une activité telle, qu'ils aboutissent à la résolution de la matière organique en éléments minéraux, eau et acide carbonique ; c'est à ce mode vital qu'est due la différence essentielle entre les moisissures et les ferments alcooliques qui, obligés d'emprunter leur

oxygène aux matières fermentescibles, y trouvent une quantité d'énergie suffisante pour les dédoubler en alcool et acide carbonique, mais ne peuvent aller au delà.

Des phénomènes du même genre sont provoqués par le *penicillium glaucum* qui apparaît dans les cultures même les plus florissantes d'aspergillus, quand elles sont au contact d'éléments nutritifs de digestion difficile.

Sous son influence, l'*acide racémique* est complètement comburé ; mais en prenant, comme l'a fait M. Pasteur, un liquide nutritif composé d'ammoniaque et de phosphate en solution dans l'eau, la végétation devient languissante, et au lieu que l'acide racémique disparaisse simplement, il se dédouble en acide tartrique gauche qui résiste et en acide droit qui est consommé d'abord par le penicillium ; plus tard l'acide tartrique gauche est à son tour attaqué et finalement le liquide devient neutre et inactif.

M. Le Bel a mis à profit l'observation de M. Pasteur, relative à la résistance différente des modifications droite et gauche d'un même corps à l'action des moisissures, pour séparer les deux variétés d'alcool qui existent dans l'*alcool amylique* de fermentation rendu inactif par des distillations répétées sur la soude caustique ; cet alcool est un mélange, en proportions égales, d'alcool éthylméthyléthylique droit et gauche ; soumis en solution étendue à l'action du penicillium glaucum, il perd son alcool gauche et laisse l'alcool droit.

Par un procédé analogue, le même auteur a obtenu le dédoublement de l'alcool isopropyléthylique en alcool droit, qui est consommé, et en alcool gauche qui reste.

Les noix de galle concassées et abandonnées à l'air au contact de l'eau, donnent naissance à de l'*acide gallique* (Scheele) qui ne préexiste pas dans la plante (Pelouze), mais provient de l'action des

spores des moisissures sans lesquelles il ne peut prendre naissance (Van Tieghem). Ces spores se développent dans toute la masse du liquide en flocons de mycélium que l'on distingue à l'œil nu, et parmi lesquels on reconnaît celui du penicillium glaucum, Ces végétaux puisent dans les éléments organiques et minéraux de la noix de galle les matériaux nécessaires à leur nutrition, et décomposent la substance génératrice de l'acide gallique par phases successives.

Dans la première, le tannin de la noix de galle, qui est un glucoside de l'acide tannique réel, se dédouble, par hydratation, en glucose et acide gallique qui ne diffère de l'acide tannique que par une molécule d'eau :

$$\underset{\text{Ac. tannique.}}{C^{14}H^{10}O^{9}} + H^{2}O = \underset{\text{Ac. gallique.}}{2C^{7}H^{6}O^{5}}$$

$$3\ \underset{\text{Tannin.}}{C^{18}H^{16}O^{12}} + 6\ H^{2}O = \underset{\text{Ac. gallique.}}{6\ C^{7}H^{6}O^{5}} + \underset{\text{Glucose.}}{2\ C^{6}H^{12}O^{6}}$$

(Pelouze et Frémy).

Comme dans toutes les hydratations produites par les êtres organisés, il est probable que celle qui constitue le dédoublement du glucoside tannique est encore due à une diastase spéciale sécrétée par le penicillium (Duclaux) ; cette diastase n'a pas encore été isolée.

Une fois ce dédoublement effectué, la moisissure consomme d'abord la glucose avec dégagement de gaz carbonique et de vapeurs alcooliques, et il arrive un moment, manifesté par la cessation de la production de gaz, où il ne reste plus dans le liquide que l'acide gallique ; c'est ce moment que saisit l'industriel pour en extraire l'acide gallique qui serait ensuite brûlé à son tour par les mucédinées, et qui, débarrassé de la glucose, cristallise avec facilité dans le liquide, en paillettes chatoyantes.

Cette action des moisissures exige la présence

d'une certaine quantité d'oxygène; elle s'arrête en vase clos dès que tout le gaz emprisonné a disparu; l'oxygène absorbé est transformé en un volume égal d'acide carbonique.

Jusqu'à présent nous ne nous sommes occupés, dans la transformation du tannin, que de l'action du mycélium des moisissures formées aux dépens des spores, dans la masse du liquide; si la végétation devient superficielle et s'étale en une membrane continue, son activité oxydante devenue maximum au contact de l'air, ne s'arrête plus à la phase d'acide gallique; tout est brûlé rapidement et directement; et l'on ne trouve plus d'acide gallique dans le liquide, même en présence d'un excès de tannin, quand l'oxygène de l'air ne peut plus pénétrer au-dessus de la couche de moisissure pour arriver au contact des parties plongées du mycélium. La plante consomme tout, mais aussi elle prend un développement considérable qui peut dépasser le quart du poids du tannin détruit.

Cette action destructive est facilement combattue par les antiseptiques, parmi lesquels se recommandent la créosote et le phénol dont quelques gouttes suffisent pour assurer la conservation indéfinie des solutions de tannin; l'alcool agit de la même façon; il en est de même de traces de nitrate d'argent (1/1.600.000) et de sublimé (1/512.000.)

IV

FERMENTATION ALCOOLIQUE

On donne le nom de *fermentation alcoolique* au dédoublement du sucre en alcool et acide carbonique, sous l'influence de la levûre de bière.

Nous verrons plus tard ce même dédoublement se produire sous d'autres influences, par exemple au contact de la matière organique soustraite à l'influence vitale; quelle que soit la cause efficiente du phénomène, il reste identique dans son essence, le point de départ, matière sucrée, et les produits ultimes, alcool et acide carbonique, étant les mêmes; mais nous adopterons, avec Pasteur, la définition plus spécialisée que nous avons donnée tout d'abord, parce que, envisagée ainsi à un point de vue plus restreint, elle reste pour nous la définition exacte du phénomène le plus fréquent et le plus fréquemment utilisé, pour la production industrielle des liquides alcooliques.

Nous aurons dès lors à passer successivement en revue: les levûres diverses, les produits de fermentation, les substances fermentescibles; étudiant ensuite la production de l'alcool aux dépens des sucres sous des influences autres que celle de la levûre,

nous serons amenés à la théorie de la fermentation; enfin nous appliquerons les résultats de cette étude à la fabrication des boissons alcooliques diverses.

§. 1. — *Des levûres.*

Les levûres sont des champignons thécaphores simples, dépourvus de véritable mycélium, qui se reproduisent généralement par bourgeonnement. Les cellules, de forme variable suivant l'espèce, sont formées d'une membrane mince (fig. 12), incolore et élastique, de nature cellulosique, contenant un protoplasma incolore, homogène et hyalin dans les cellules jeunes, rempli de petites granulations amorphes dans les cellules adultes ou vieilles. Le protoplasma renferme, en l'absence de tout noyau, une ou deux vacuoles plus ou moins régulièrement sphériques remplies de suc cellulaire. Les cellules sont généralement isolées, quelquefois réunies par paires.

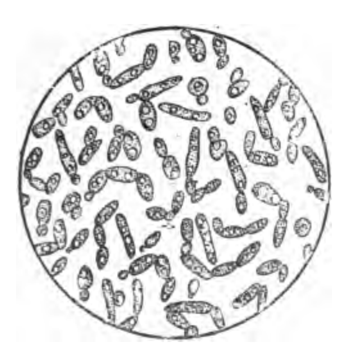


Fig. 12. Saccharomyces cerevisiæ jeune.

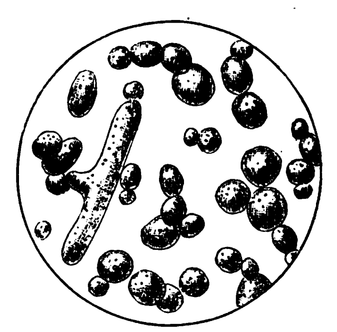


Fig. 13. Saccharomyces cerevisiæ vieux.

Quand on place une de ces cellules dans un liquide sucré, la surface se renfle en un ou deux points, en produisant des vésicules dans lesquelles

se répand le protoplasma de la cellule mère; ces renflements s'accroissent et s'étranglent à leur base, quand ils ont pris le volume de la cellule initiale, puis finissent par se séparer de cette dernière. Le protoplasma de la cellule mère qui a passé dans le nouvel élément, est remplacé par les vacuoles de suc cellulaire; aussi, après plusieurs proliférations, ne reste-t-il plus dans les vieilles cellules que quelques grains de protoplasma qui nagent dans un excès de liquide cellulaire (fig. 13). Dès lors la vitalité de la cellule mère diminue rapidement; sa membrane d'enveloppe se rompt et le contenu granuleux passe dans le liquide extérieur, qui subit pendant ce temps la fermentation alcoolique (1).

Ce mode de développement des globules de levûres par bourgeonnement n'est pas le seul. Ress a montré (1869) que, placées dans un milieu non nutritif, elles fructifient par sporulation interne; il abandonne pour cela la levûre pendant plusieurs jours sur des tranches de carottes, de pommes de terre, etc. Engel, qui a confirmé la découverte de Rees (1872), préfère étendre une couche mince de levûre très fraîche lavée à l'eau, pour la priver de liquide sucré, et délayée dans l'eau, sur la surface unie d'un bloc de plâtre coulé sur une lame de verre bien dégraissée. Il place le bloc, la levûre au dessus, dans un vase en verre à bord élevé, y verse de l'eau jusqu'à un centimètre au-dessous de la surface du

(1) D'après M. de Vauréal, le mode de reproduction des levûres par bourgeonnement ne serait qu'une illusion d'optique, impossible en réalité, à cause de la nature de l'enveloppe composée de cellulose non contractile. L'utricule de la levûre se rapproche des spermogonies de Tulasne; les granulations de chaque cellule seraient des spermaties qui, devenues libres par la rupture de l'utricule, reproduiraient d'autres cellules; ces spermaties pourraient, grâce à leur ténuité extrême, se trouver en suspension dans l'air, alors même que l'examen des bourres de coton, sur lesquelles on filtre cet air, ne révélerait la présence d'aucun globule adulte bien caractérisé.

bloc, et recouvre le tout d'une lame de verre. Dans ces conditions, les vieilles cellules tombent rapidement en deliquium, tandis que les jeunes grandissent; leurs lacunes disparaissent, et le protoplasma se mélange uniformément au suc cellulaire. Au bout de six à dix heures, deux à quatre îlots brillants et denses apparaissent dans le protoplasma de chaque cellule, autour desquels se rassemblent de fines granulations. Les îlots deviennent sphériques, puis après douze à vingt-quatre heures s'entourent d'une membrane d'abord très mince, qui s'épaissit ensuite et présente au microscope un double contour. A ce moment, chaque cellule est devenue une thèque dont la forme varie suivant le nombre des spores qu'elle renferme; elliptique quand elle contient deux spores, elle est triangulaire avec trois spores, lozangique ou tétraédrique avec quatre spores rangées en croix ou superposées en tétraèdre. Parvenues à maturité, les enveloppes des thèques se rompent et les spores deviennent libres. Introduites dans un moût sucré, ces spores grandissent et deviennent des cellules de levûre qui se reproduisent par bourgeonnement.

Nous venons de voir les modes de développement normaux des levûres, suivant que le milieu est nutritif ou ne l'est pas. M. Pasteur a découvert une nouvelle phase de la vie des levûres abandonnées au contact de l'air à la fin des fermentations. A la fin d'une fermentation alcoolique produite par une levûre pure, les cellules vieillissent peu à peu, ce que manifeste l'épaississement de l'enveloppe et la transformation granuleuse du protoplasma. Mais si l'air arrive au contact du liquide, une partie de ces cellules se remet à bourgeonner et vient former à la surface du liquide un voile ressemblant complètement au voile du Mycoderma vini, ou une couronne sur la paroi du vase. Cette modification aérobie de la levûre vit comme une véritable moisissure aux dépens des matériaux hydrocarbonés contenus dans le liquide

sous-jacent qu'elle combure complètement, les transformant en eau et acide carbonique. Vient-on à semer un fragment de cette levûre superficielle dans un moût sucré, il le fait fermenter alcooliquement et reprend le mode de développement habituel des levûres. Mais le produit nouveau ainsi obtenu n'est plus identique à la levûre qui a servi de point de départ; il en reproduit plus ou moins bien la forme, mais il a acquis des propriétés spéciales qui l'en distinguent complètement. C'est ainsi que la levûre aérobie provenant d'une levûre de fermentation basse, ensemencée dans un jus sucré, y développe une fermentation haute, et inversement; en outre, les générations successives du ferment qui a passé par l'état aérobie conservent le même mode d'action.

Il est bien entendu que ces levûres déviées doivent se former dans l'industrie, avec la levûre la plus pure, pourvu qu'elle subisse en partie et momentanément le contact de l'air, et que par suite les levûres commerciales vendues aux boulangers ou aux brasseurs sont des mélanges hétérogènes dans lesquels prédomine cependant la levûre primitive, si l'accès de l'air a été accidentel et peu prolongé. Et lorsque dans l'ensemencement d'un moût sucré, la fermentation normale s'établit régulièrement sans qu'on voie apparaître les signes caractéristiques de la présence de la levûre aérobie, cela tient à la prédominance dans le levain de la levûre normale dont le développement manque ou empêche l'action de la levure aérobie qui se trouve étouffée au milieu de la masse du ferment normal.

La dénomination générique de *Saccharomyces* a été donnée aux levûres par Rees, dont nous reproduisons la classification avec les noms, généralement adoptés en France, qu'il a attribué aux diverses espèces.

Saccharomyces cerevisiœ (Meyen), cellules rondes

ou ovales de 8 à 9 μ (1) dans leur plus grand diamètre. Cette espèce comprend les deux variétés cependant si différentes de levûre basse et haute; la levûre haute est formée de cellules un peu plus grosses et plus globuleuses que la levûre basse; son bourgeonnement est également plus rapide et plus rameux.

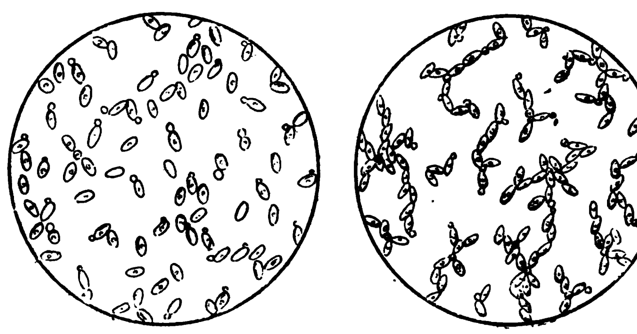


Fig. 14. Levûre basse jeune. Fig. 15. Levûre haute jeune.

La *levûre basse* (fig. 14) sert dans les brasseries à la fermentation des moûts, à une température voisine de 5 à 6°, ne montant jamais au-dessus de 10°, et à laquelle les autres levûres n'ont pas d'action. Elle reste toujours au fond du vase, quelle que soit l'activité du dégagement de l'acide carbonique, et n'adhère pas aux parois.

La *levûre haute* (fig. 15) se développe et agit de 15 à 20°; elle monte toujours à la surface du liquide en fermentation où, par l'enchevêtrement de ses rameaux de prolifération, elle se réunit en une sorte de chapeau assez adhérent, analogue à celui que forment les grappes dans la fermentation du jus de raisin. Si la fermentation haute est produite en tonneau, la levûre est chassée par la mousse qui sort par la

(1) Le μ représente un millième de millimètre.

bonde, et se répand en grande partie sur les parois extérieures du fût.

Quoique classées par Rees dans une même espèce, ces deux levûres doivent être distinguées l'une de l'autre, puisqu'elles agissent dans des conditions complètement différentes, et donnent des produits de saveur spéciale pour chacune d'elles. En France, la brasserie utilise généralement la levûre basse, tandis que la haute sert le plus souvent en Angleterre et dans les Pays-Bas ; la levûre haute est presque exclusivement employée à la fabrication des alcools dans la distillerie.

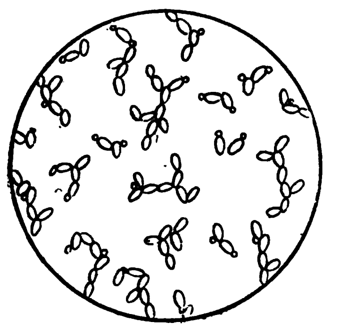


Fig. 16. Nouvelle levûre haute.

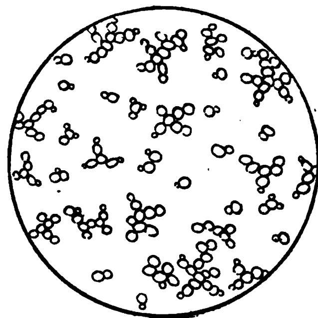


Fig. 17. Levûre caséeuse.

Deuxième levûre haute. (Fig. 16) — Découverte accidentellement par M. Pasteur dans un moût de bière ; se rapproche beaucoup, par sa forme et son mode de développement peu rameux, de la levûre basse, mais monte cependant à la surface des liquides qu'elle fait fermenter, et donne une bière d'une saveur encore spéciale.

Levûre caséeuse. (Fig. 17) — Egalement découverte par hasard ; cellules rappelant par leur forme allongée et rameuse le Saccharomyces Pastorianus, mais à contour plus ferme, à contenu plus translucide et plus réfringent que dans les autres levûres. Leur grand

diamètre oscille entre 10 et 20 μ. Cette levûre présente une plasticité spéciale qui fait qu'elle se délaye très difficilement dans l'eau, et n'y reste pas en suspension. C'est encore une levûre haute trouvée par M. Pasteur dans une levûre de Hollande et plus tard, dans une levûre haute des Ardennes et dans le pale-ale. Elle donne une bière particulière.

Saccharomyces ellipsoïdus. (Fig. 18) — Cellules ellipsoïdales, dont le grand diamètre moyen est de 6 μ. C'est le ferment spécial du jus de raisin. Ensemencé dans un moût de bière, il donne au produit une odeur vineuse très prononcée.

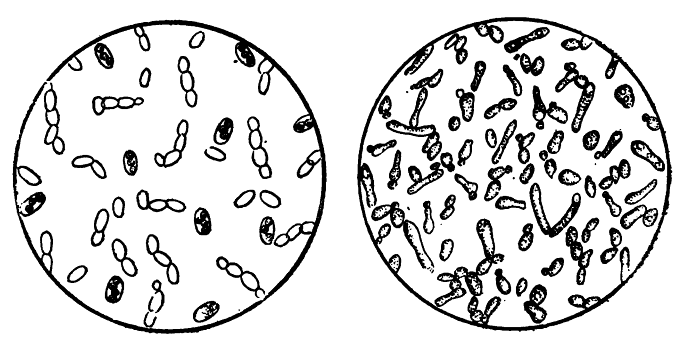


Fig. 18. Saccharomyces ellipsoïdus. Fig. 19. Saccharomyces partorianus.

Saccharomyces Pastorianus. (Fig. 19) — Cellules ovales, pyriformes ou en forme de massues, dont le grand diamètre est compris entre 6 et 20 μ, et qui fait partie des ferments du raisin, des fruits et de beaucoup de levûres spontanées. Elles sont essentiellement polymorphes. Au début de la fermentation, le le S. Pastorianus est formé d'articles allongés, rameux; à mesure que l'oxygène en dissolution dans le liquide disparaît, les cellules nouvelles diminuent de longueur et de diamètre.

Saccharomyces apiculatus. (Fig. 20) — Cellules ellipsoïdales de 6 μ sur 3 μ, renflées en pointe aux

extrémités d'un même diamètre, en forme de citron. Très répandu sur les fruits, il apparaît toujours au début de la fermentation de leur jus, mais est promptement étouffé par le S. Pastorianus, plus vivace, qui disparaît lui-même devant le S. ellipsoïdus. Il est dépourvu de diastase inversive.

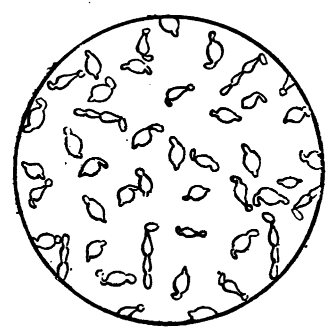


Fig. 20. Saccharomyces apiculatus.

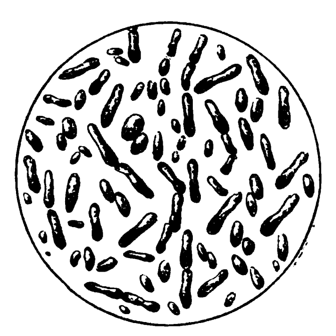


Fig. 21. Mycoderma vini.

Saccharomyces mycoderma (micoderma vini). (Fig. 21) — Ce végétal, connu sous le nom de fleur de vin, fleur de bière, se développe avec la plus grande facilité à la surface des boissons alcooliques qu'il recouvre d'un véritable voile blanchâtre. Essentiellement aérobie, il oxyde l'alcool qu'il transforme en acide carbonique et en eau, sans qu'on sache s'il se produit de l'acide acétique comme terme intermédiaire. Cependant, quand on le submerge dans un liquide sucré, il devient ferment alcoolique, mais ne cesse de se distinguer des ferments anaérobies, et ne produit pas le moindre globule de levûre alcoolique véritable. (Pasteur.)

Citons encore pour mémoire : le *S. exiguus* trouvé dans les liquides de fruits fermentés ; le *S. conglomeratus,* rencontré assez rarement dans le jus de raisin ou sur des raisins putréfiés : le *S. minor,* trouvé par Engel dans le levain de farine, et ne dédoublant

que très lentement le sucre; la *levûre sans ferment inversif*, de M. Roux, inerte à l'égard de la saccharose qu'elle ne peut dédoubler au préalable; la *levûre aérobie*, de M. Le Bel, laquelle oxyde l'éther; enfin, un *saccharomyces inactif*, que M. Pasteur a montré ne pas faire fermenter la glucose.

§ 2. — *Composition immédiate des levûres.*

L'étude de la composition immédiate des levûres, c'est-à-dire la séparation et la détermination de la nature des principes constituants de ces ferments, a fait l'objet de travaux nombreux; MM. Mitscherlich, Mülder, Wagner, Marcet et Dumas, Schlossberger, Liebig, Payen, Pasteur, Nœgeli, etc., se sont occupés de la question. Toutes ces recherches ont été faites sur des levûres aussi bien débarrassées que possible des produits étrangers qui les imprègnent, par lavage à l'eau et décantation; nous ne donnerons ici que le résultat des analyses élémentaires de MM. Dumas et Schlossberger.

	M. Dumas.	M. Schlossberger. Levûre supér.	M. Schlossberger. Levûre infér.
Carbone	50,6	49,9	48,0
Hydrogène	7,3	6,6	6,5
Azote	15,0	12,1 - 11,6	9,8
Oxygène }		31,4	35,7
Soufre }	27.1	»	»
Phosphore }		»	»
Cendres	»	2,5	3,5

Les chiffres obtenus par les divers auteurs présentent des divergences que l'on doit attribuer moins aux procédés d'analyse qu'aux différences dans la composition élémentaire des levûres dont la nature organisée implique des modifications continues dans

leur constitution chimique, par suite des phénomènes vitaux dont elles sont le siège constant. C'est ainsi que l'on peut expliquer la moindre teneur en carbone et en azote de la levûre inférieure par un contact prolongé avec le liquide en fermentation, d'où résulte un commencement d'altération qui aboutit à la production de composés solubles, aux dépens des éléments constituants des ferments.

MM. Schlossberger, Mülder, etc., ont tenté la séparation des principes immédiats de la levûre. Ils y ont ainsi reconnu la présence de substances dont la composition élémentaire est très voisine de l'albumine :

	M. Schlossberger.	M. Mülder.
	—	—
Carbone	55,5	53,5
Hydrogène	7,5	7,0
Azote	13,9	16,0

La partie soluble extraite par M. Schlossberger à l'aide de la potasse très étendue, paraît d'ailleurs identique à l'un des produits de dédoublement de l'albumine sous l'influence de l'acide sulfurique étendu, l'*hémiprotéïne* de M. Schutzenberger.

A côté des substances de nature albuminoïde, M. Schutzemberger a isolé un produit insoluble dans les alcalis et les acides étendus, très voisin de la cellulose par sa composition centésimale, mais différenciée de la cellulose ordinaire par son insolubilité dans la liqueur de Schweizer (oxyde de cuivre ammoniacal), et par sa facile transformation en sucre réducteur et fermentescible, sous l'influence des acides à chaud.

En résumé, le globule de levûre peut être caractérisé au point de vue chimique comme renfermant une cellulose spéciale qui en forme l'enveloppe extérieure (voir les caractères histologiques), dans laquelle se trouve un protoplasma de nature albuminoïde. Ce protoplasma se comporte comme toutes les matières albuminoïdes soumises à l'influence vi-

tale ; il se résout en éléments de déchets azotés, identiques à ceux qui prennent naissance dans les mêmes conditions, dans les tissus animaux ou dans la graine en germination, leucine, tyrosine, carnine, xanthine, hypoxanthine, guanine, etc., que l'on trouve d'ailleurs dans les eaux de lavage de la levûre. Ce protoplasma renferme encore des graisses (Payen), de la cholestérine (Lœw), de la lécithine et de la nucléine (Hoppe Seyler).

La formule suivante résume les résultats plus détaillés d'une analyse immédiate de la levûre faite par MM. von Nœgeli et O. Lœw.

Levûre basse, à 8 °/₀ d'azote environ :

Membrane cellulaire (cellulose avec mucilage végétal)..		37
Matières albuminoïdes.	1. Albumine soluble ordin..	36
	2. A l'état de combinaisons phosphorées peu stables, analog. à la glutencaséine.	9
	3. Peptones précipitables par l'acétate de plomb	2
Corps gras (graisses, cholestérine et lécithine).........		5
Matières extractives (leucine, tyrosine, etc.)...........		4
Cendres...		7
		100

Il nous reste à étudier la composition des cendres de la levûre, pour lesquelles on retrouve des variations quantitatives analogues à celles que nous a déjà montrées l'analyse élémentaire de la partie organique. Nous ne citerons que les résultats de l'analyse faite par M. Belohoubek, des cendres d'une levûre viennoise pressée.

100 gr. de cendres pures, contenant 96,13 pour 100 de principes solubles dans l'eau, renferment :

Acide phosphorique..	51,09	Magnésie........	4,16
— sulfurique......	0,57	Chaux.	1,99
— silicique........	1,60	Oxyde de fer.........	0,06
Chlore....	0,03	Protoxyde de manganèse................	traces.
Potasse..............	38,68		
Soude................	1,82		

Nous appelons l'attention sur la prédominance, dans les cendres de la levûre comme dans celles du globule sanguin, de l'acide, sulfurique et de la potasse. De plus nous retrouvons, comme dans les organismes d'un ordre plus élevé, à côté d'une petite quantité de fer, des traces de manganèse.

§ 3. — *Origine des levûres.*

Les moûts sucrés fermentent, les uns par ensemencement, les autres spontanément. Dans la première catégorie se placent :

1° La fermentation du moût de bière par les levûres haute ou supère, basse ou infère ; — 2° la fermentation panaire.

La fermentation spontanée se déclarant en dehors de tout ensemencement direct de levûre, se produit dans le moût de certaines bières belges, et dans les moûts naturels en général ; c'est elle, en effet, qui nous donne le vin, le cidre, le poiré, etc.

D'où vient le ferment sans lequel la production d'alcool est impossible ?

M. Pasteur a démontré, par une série d'expériences sur des liquides sucrés, stérilisés par l'ébullition :

1° Que la filtration de l'air par le coton retient un grand nombre de corpuscules dont quelques-uns ressemblent aux spores des moisissures et aux œufs des microzoaires ;

2° Que toutes les infusions organiques stérilisées par la chaleur restent intactes au contact de l'air calciné, mais reprennent leur activité fermentative dès qu'on y introduit une bourre de coton chargée des poussières puisées dans l'air ;

3° Qu'en recueillant soigneusement à l'abri de l'air, et en conservant en vases clos le jus de fruits sucrés, tels que raisin, pommes, etc., la fermentation ne se produit pas, mais se déclare plus ou moins

vite, dès qu'on expose le jus au libre contact de l'atmosphère ambiante, ou encore quand on y introduit un fragment d'épiderme du fruit qui a fourni le jus.

La conclusion naturelle de ces résultats est que la fermentation spontanée est impossible ; qu'elle se déclare, dans les liquides qui entrent spontanément en fermentation, après l'apport d'un germe venant de l'extérieur. Cela suppose une multiplicité énorme des germes ; cette multiplicité n'a rien d'extraordinaire, quand on sait qu'un globule de levûre peut en donner seize millions en vingt-quatre heures, et qu'un Cercomonade peut produire en trois heures plus d'infusoires que la terre ne porte d'habitants.

Cependant il n'y a généralement que peu de levûre dans l'air; M. Miquel n'en a trouvé que des traces ; mais si l'on examine au microscope les poussières répandues à la surface du raisin, on y trouve un grand nombre d'éléments unicellulaires, les uns incolores et translucides, les autres colorés en rouge brun. Transplantés dans un moût de raisin stérilisé, les premiers se développent en moisissures superficielles, tandis que les cellules colorées donnent naissance à une véritable levûre alcoolique: le ferment des moûts sucrés naturels réside donc à la superficie des fruits d'où proviennent ces moûts ; il y abonde au moment de la maturité.

Etant donnée la minime quantité de levûre en suspension dans l'air, M. Miquel pense que le plus souvent les levûres sont transportées par les trompes des mouches ; il a vu, en effet, les jus naturels stérilisés, exposés à l'air dans des pays vignobles, au moment de la vendange, se couvrir de moisissures sans fermenter, si on prenait le soin de les préserver de l'approche des mouches.

§ 4. — *Nutrition des levûres.*

La levûre est un végétal unicellulaire qui, dans des conditions déterminées, a pour but physiologique la fermentation des sucres. Ces conditions ne doivent pas être différentes, *à priori*, de celles qui régissent la vie des cellules d'autres tissus végétaux dépourvus de chlorophylle; comme celles-ci, la levûre respire, s'alimente, assimile et modifie ses principes immédiats de façon à obéir à la loi générale du renouvellement incessant de la matière organisée; envisagée à ce point de vue, la vie de la levûre de bière ne constitue plus un point spécial et isolé de la physiologie des êtres vivants ; bien mieux, la fonction physiologique qui a servi à la caractériser ne lui appartient pas exclusivement, puisque les cellules végétales des fruits peuvent, comme elle, transformer le sucre en alcool et que, comme ces dernières, placée dans des conditions de milieu convenable, elle peut brûler le sucre et le transformer presque exclusivement en acide carbonique. Il en résulte ce fait, d'une importance capitale dans l'étude des fonctions biologiques des êtres vivants, que nous pouvons, opérant sur cet organisme unicellulaire si facile à manier, nous rendre un compte exact des conditions de son existence et, par une généralisation d'ailleurs rationnelle, prévoir ce qui se passe dans les éléments constituants des végétaux d'ordre plus élevé.

Nous allons donc étudier les besoins des levûres, les conditions de leur fonctionnement, laissant de côté les légères différences qui doivent exister entre les diverses espèces, et qui, pour les deux principales, celles qu'on a le mieux étudiées, les levûres haute et basse, sont déjà manifestées à notre connaissance par les températures bien différentes auxquelles elles se développent, et par la saveur spéciale

pour chacune d'elles qu'elles donnent aux liquides de fermentation.

La première question à traiter, dans cet ordre d'idées, est celle de l'alimentation des levûres ; nous aurons à étudier les produits de fermentation et les circonstances physiques et chimiques qui peuvent influencer la vie des levûres.

Etant donnée la composition de la levûre, il est facile de prévoir qu'il lui faut, comme aux organismes les plus élevés, trois sortes d'aliments: des aliments minéraux, des aliments azotés et des aliments hydrocarbonés. De ces trois aliments, le plus important, au point de vue des résultats économiques, est certainement le dernier, puisqu'il doit aboutir à la production de l'alcool, but final de la fermentation ; mais les deux autres n'en sont pas moins nécessaires à la plante.

1. Alimentation minérale des levûres.

C'est M. Pasteur qui, le premier, a démontré la nécessité absolue de l'alimentation minérale pour le développement de la levûre et l'accomplissement de la fermentation.

En effet, tandis que la fermentation se produit très bien dans un liquide contenant du sucre, du tartrate d'ammoniaque et des cendres de levûre, et ensemencé avec une trace de ferment, elle devient lente et le développement des cellules ne se produit plus si l'on supprime les cendres de levûre; une modification du même ordre se fait sentir si l'on remplace le phosphate de potasse des cendres de levûre par du phosphate de magnésie. En somme, il est facile de prévoir que la levûre, laissant par la calcination un résidu minéral qui fait partie intégrante de sa constitution, doit retrouver dans son alimentation ces éléments minéraux sans lesquels elle ne peut pas

plus vivre et se développer que l'homme ne le pourrait si on lui supprimait, par exemple, le chlorure de sodium. Il en est donc de même de la levûre et des plantes végétales qui doivent également trouver dans les milieux environnants les éléments minéraux qui constituent leurs cendres, et parmi lesquels prédominent les phosphates, la potasse, la soude, la magnésie, les sulfates.

Mais M. Pasteur n'a pas poursuivi plus loin ses recherches et, convaincu de la nécessité des substances minérales pour le développement des levûres, il se contentait, dans ses expériences, d'ajouter à ses liquides des cendres de levûre, considérant d'ailleurs à bon droit qu'elles devaient constituer l'aliment le plus convenable.

En 1869, M. Meyer a repris la question au point de vue expérimental ; il appréciait par le poids de levûre produite en un temps donné, l'effet de substances minérales qu'il introduisait dans le liquide exactement privé de tous autres éléments inorganiques ; malheureusement les travaux de Raulin n'existaient pas encore, et l'on ne se servait pas à ce moment de levûre pure, dont l'usage ne s'est introduit dans les laboratoires de recherche qu'après la publication de l'*Etude sur la bière* de M. Pasteur, en 1873.

Quoi qu'il en soit, et malgré quelques critiques que soulèvent ses méthodes, voici les résultats principaux des travaux de M. Meyer. De tous les éléments des cendres de la levûre, c'est le phosphate de potasse qui est le plus nécessaire; il ne peut être remplacé par une quantité équivalente de sel sodique ou ammoniaque; ce qui démontre bien le rôle nutritif individuel de la potasse; la magnésie est également nécessaire sous forme de sulfate ou de phosphate; la présence de la chaux ne paraît pas être indispensable.

Le mélange salin qui a donné les meilleurs résultats est le suivant :

Phosphate de potasse.........	0,05	pour 100 de solution sucrée à 15 p. 100 de sucre candi.
Sulfate de magnésie.........	0,5	
Phosphate de chaux..........	0,05	

A dose faible, les préparations ferrugineuses paraissent sans influence; elles deviennent nuisibles quand leur proportion devient plus considérable.

On a vu précédemment que les cendres de la levûre renferment du soufre; cet élément n'est pas incorporé par la levûre à la suite d'un phénomène de réduction des sulfates, dont la présence n'est d'ailleurs ou plutôt ne paraît pas nécessaire, la fermentation se produisant très bien dans un liquide qui ne renferme que du sucre candi, du phosphate de potasse et du phosphate ammoniaco-magnésien, mélange qui ne contient pas de soufre, du moins en apparence. Et cependant les cendres d'une levure développée dans un tel liquide renferment toujours du soufre. Il résulte des recherches de M. Meyer que ce soufre provient du sucre, dont les variétés les plus pures en renferment encore 0,006 pour 100; et l'on est autorisé à croire qu'en l'absence complète et absolue de soufre, la levûre ne se reproduirait pas.

2. Alimentation azotée des levûres.

Le protoplasma de la levûre renferme des matières albuminoïdes, et par suite de l'azote; cet azote peut provenir de l'air, de l'ammoniaque, des composés oxygénés de l'azote, enfin de matières albuminoïdes; quel est le rôle de chacun de ces éléments dans l'alimentation azotée de la levûre? Disons tout d'abord que cette levûre ne fait pas exception à la règle établie par Boussingault pour les végétaux supérieurs, et que pas plus que ces derniers, elle n'est susceptible de s'assimuler directement l'azote libre dans l'atmosphère.

Assimilation de l'azote ammoniacal. — Le rôle de

l'ammoniaque dans la nutrition de la levûre a encore été démontré par M. Pasteur. Après avoir reconnu la disparition de l'ammoniaque contenue dans les jus sucrés dans les fermentations industrielles, sans dégagement sensible d'azote, après avoir constaté que la levûre peut absorber de l'ammoniaque provenant d'un sel ajouté au liquide, tel que tartrate ammoniaque, alors même qu'elle est en présence des matériaux azotés très assimilables de l'eau de levûre, il reprit ses expériences sous la forme définitive que nous résumons : il ensemence des traces de levûre dans un liquide contenant, pour 200 gr. de sucre candi, 1 gr. 5 de sulfate ammonique, 1,5 de cendres de levûre, 1 gr. de bitartrate de potasse, 0,5 de bitartrate d'ammonium, le tout avec les précautions les plus grandes pour éviter les germes étrangers. La fermentation est en pleine activité au bout de 48 heures ; 13 jours après, il reste moins de 2 gr. de sucre, et la fermentation est complète après quelque temps. Il ne s'est développé que de la levûre pure, dont le poids, après lavage et dessication à 100 degrés, est de 2 gr. 56. Outre l'alcool, le liquide contient de la glycérine et de l'acide succinique ; mais l'ammoniaque ajoutée au préalable à l'état salin a disparu en majeure partie, et se retrouve évidemment dans les matières albuminoïdes des 2 gr. 56 de levûre qui ont eu comme point de départ une quantité pour ainsi dire impondérable de globules frais.

Ce résultat, qui venait répondre aux objections de Liebig et de Millon, a été confirmé par M. Duclaux; mais au lieu d'opérer sur une trace de levûre, voulant donner plus d'ampleur à son expérience, en rendre les conséquences plus palpables, et en même temps diminuer les erreurs de l'analyse, M. Duclaux a opéré sur 15 gr. de levûre en pâte représentant 2 gr. 50 à l'état sec, et contenant 0,215 d'azote, qu'il a ensemencée dans un liquide contenant 40 gr. de sucre et 1 gr. de tartrate droit d'ammoniaque. Le

liquide renfermait donc, avant la fermentation, les quantités d'azote suivantes :

Dans la levûre	0,215
Dans le tartrate	0,152
	0,367

Après la fermentation, on a retrouvé :

2gr236 de levûre à 6,36 % d'Azote	0,148
Matière albuminoïde dans le liquide	0,170
A l'état de sel ammoniacal	0,045
	0,363

107 milligr. d'azote contenus primitivement à l'état de sel ammoniacal ont donc été transformés en matière albuminoïde, ce qui démontre bien la production de ses matériaux albuminoïdes, par la levûre, aux dépens de l'ammoniaque, et la rapproche une fois de plus des végétaux supérieurs qui, eux aussi, peuvent former leurs éléments azotés aux dépens de l'ammoniaque.

Ajoutons que M. Meyer a complété les observations de MM. Pasteur et Duclaux en montrant qu'on peut remplacer le tartrate d'ammoniaque par tout autre sel ammoniacal, oxalate, azotate, etc., pour obtenir la prolifération de la levûre.

Assimilation de l'azote des nitrates. — Les travaux de M. Boussingault ont démontré le rôle important des nitrates dans l'alimentation des végétaux supérieurs ; ils pénètrent en solution jusque dans l'intérieur des plantes, où ils subissent ensuite les phénomènes de réduction qui aboutissent à la production des matières albuminoïdes végétales. Il en est de même de certains végétaux inférieurs, des moisissures, par exemple, qui assimilent très bien les nitrates contenus dans les liquides à la surface desquels ils se développent. Mais il paraît résulter des observations de Mayer et de Schaer que l'addition

de nitrate de potasse ne communique pas une activité plus grande aux fermentations, et que, par suite, les levûres ne possèdent pas le pouvoir réducteur à l'égard des composés nitrés qui appartient aux cellules de moisissure et aux organismes plus élevés. Et cependant nous verrons plus tard les globules de levûre enlever au globule sanguin l'oxygène combiné à l'hémoglobine. Aussi dirons-nous avec M. Schutzenberger qu'« avant de se prononcer dans le sens négatif, il convient de varier les expériences ».

Nutrition par les matières albuminoïdes. — Nous savons déjà que les sels ammoniacaux sont assimilés par la levûre ; mais il existe d'autres matières azotées de nature organique, celles qui se trouvent, par exemple, dans le jus de raisin, le moût de bière et même l'eau de levûre, qui favorisent encore davantage son développement et sa prolifération, qui constituent donc pour elle un aliment azoté de prédilection. Quelle est la nature de cette matière organique? MM. Thénard et Colin avaient observé que l'albumine de l'œuf ne provoque la fermentation alcoolique qu'après une conservation prolongée à la température de 30°; opérant avec l'albumine fraiche, M. Pasteur n'obtint jamais de fermentation; ces deux faits, rapprochés l'un de l'autre, montrent que l'albumine ne devient nutritive, pour la levûre, qu'après qu'elle a subi des modifications de la par des bactéries qui se sont abondamment développées dans le liquide, pendant son contact prolongé avec l'atmosphère, modifications qui, nous le savons aujourd'hui, consistent principalement dans des phénomènes d'hydratation, avec dédoublements partiels de la substance. On trouve constamment des peptones dans ces produits d'altération de l'albumine ; seraient-ce ces substances dialysables qui constitueraient le véritable aliment de nature albuminoïde des levures ? Si oui, ce fait serait d'une importance capitale pour démontrer les analogies profondes

dans les phénomènes vitaux de ces organismes unicellulaires et ceux des organismes supérieurs, qui n'assimilent également les matières albuminoïdes qu'après leur transformation en peptones sous l'influence de diastases spéciales sécrétées par certaines variétés de leurs cellules constituantes.

Cette hypothèse a été vérifiée par M. Mayer; par de nombreuses expériences, il a montré que les diverses variétés d'albumine proprement dites ne sont pas absorbées par le globule de levûre, ce qui tient à l'existence d'une enveloppe celluleuse jouant le rôle de paroi osmotique à travers laquelle les albumines de nature colloïdale, c'est-à-dire non diffusibles, ne peuvent pénétrer jusqu'au protoplasma; il n'en est plus de même des produits de la digestion gastrique et pancréatique de l'albumine, ou des produits de digestions artificielles, parmi lesquels prédominent les peptones dialysables; ces matériaux d'élaboration digestive contribuent puissamment au développement et à la multiplication des levûres qui les absorbent au même titre que les cellules de l'organisme animal. Ceci nous explique le rôle alimentaire si net des moûts de bière, de raisin ou de fruits; qu'ils contiennent ou non des matières albuminoïdes proprement dites, on y trouve toujours des substances également protéiques, mais non coagulables par la chaleur, ni par les acides, comme les peptones; ce sont ces dernières qui sont absorbées.

Parmi les diastases, celle de l'orge germée et la pepsine seules paraissent assimilées par la levûre, et cette assimilation est indépendante du rôle diastasique de ces ferments solubles, puisqu'elle se produit encore alors que cette action spéciale a été annihilée par une température élevée. En revanche, plus la diastase employée est pure, moins active est la prolifération des globules de levûre; l'action nutritive paraît donc encore due aux matières albuminoïdes assimilables qui accompagnent les ferments

diastasiques, et dont il est très difficile de les priver complètement.

M. Mayer s'est ensuite adressé aux produits de desassimilation des matières albuminoïdes, dans l'organisme animal, choisissant de préférence les corps cristallisables, à cause de la facilité plus grande de leur purification ; la créatine, la créatinine, l'asparagine, le leucine, sont restées inactives ; tandisque l'urée, l'acide urique, la guanine, l'allantoine ont montré une certaine action nutritive.

En résumé, de l'étude de M. Mayer sur le rôle alimentaire des matières azotées de nature organique à l'égard de la levûre, on peut conclure que les matières albuminoïdes peptonisées (et déjà la syntonine) sont seules un aliment de choix ; que les substances azotées cristallisables ont une action d'autant moins forte que leur constitution est plus complexe, qu'elles se rattachent de plus près à leur point de départ, l'albumine, qu'elles sont plus éloignées des produits de déchets à peu près complètement oxydés, tels que l'urée et l'acide urique, termes ultimes de l'oxydation des matières albuminoïdes dans l'économie animale ; et encore ceux-ci, malgré leur simplicité moléculaire relative qui les rapproche considérablement des sels ammoniacaux vrais, sont-ils loin de montrer l'activité nutritive de ces derniers.

Ajoutons encore, pour terminer l'étude de l'alimentation de la levûre par les matières organiques azotées, les conclusions auxquelles sont arrivées MM. Pasteur et Duclaux sur le rôle alimentaire de l'eau de levûre, liquide obtenu par l'ébullition de levûre jeune et en pleine activité avec de l'eau. L'eau de lavage d'une levûre jeune et vigoureuse peut servir d'aliment azoté à une fermentation nouvelle mais plus la levûre est vieille et en voie d'épuisement, moins active est la fermentation avec son eau de lavage. Or, l'expérience démontre la différence complète qui existe dans la nature des produits dis-

sous dans le liquide d'imprégnation de la levûre, suivant son âge. Avec la levûre jeune, le liquide contient des éléments azotés à constitution moléculaire plus complexe, parmi lesquels doivent certainement se trouver les peptones, aliments par excellence ; plus tard, ces peptones disparaissent, absorbées par la levûre qui vit sur elle-même et les remplace, comme nous le verrons, par des produits d'excrétion encore azotés, mais plus simples, se rapprochant de la créatine et de la créatinine ; cette explication concorde d'ailleurs avec ce résultat expérimental qu'un poids déterminé de vieille levûre sèche contient beaucoup moins d'azote que le même poids de levûre jeune dont elle provient. On comprend donc que l'infusion aqueuse de levûre jeune puisse jouer un rôle alimentaire que ne remplit plus l'eau de levûre vieille et épuisée.

3. Alimentation hydrocarbonée des levûres.

Il nous reste à parler de l'alimentation hydrocarbonée de la levûre ; nous avons dit précédemment que ce point de l'étude physiologique des levûres dominait toute leur histoire, à cause de l'importance des transformations que subissent les sucres, transformations qui constituent le côté pratique de la fermentation. Mais nous devons, dans ce paragraphe, suivre la marche déjà tracée pour les autres aliments, et nous occuper exclusivement de la recherche des substances hydrocarbonées qui conviennent le mieux au développement des levûres et à la formation de leurs tissus de nature ternaire. L'importance des sucres dans l'alimentation des levûres, leur rôle prépondérant est bien établi depuis les travaux de MM. Pasteur et Raulin sur la végétation des mucédinées et en particulier de l'aspergillus niger : sans sucre, pas de nutrition, pas de développement de la levûre.

Nous avons démontré l'existence d'une enveloppe de nature celluleuse qui forme le résidu obtenu par M. Schlossberger, en épuisant la levûre par la potasse étendue, et qui est caractérisée par sa facile saccharification à chaud sous l'influence des acides étendus ; il est en outre établi que les levûres renferment des corps gras, et M. Pasteur a prouvé que les graisses qui s'y trouvent en quantité très appréciable (2 pour 100) se forment même pendant la pullulation d'une quantité impondérable de levûre semée dans de l'eau ne renfermant en solution que du sucre pur et de l'extrait d'eau de levûre traité à plusieurs reprises par l'éther et l'alcool, et par conséquent absolument exempt de corps gras.

Dans une autre série de recherches faites sur des liquides ne contenant, à côté du sucre candi pur, que des sels ammoniacaux et des cendres de levûre, toujours ensemencés avec des traces de levûre, M. Pasteur a également vérifié la production très nette de la cuticule celluleuse des globules aux dépens du sucre, soit en dosant cette substance celluleuse isolée en nature par le procédé de M. Schlossberger, soit en déterminant les quantités de sucre que donne la saccharification, par l'acide sulfurique étendu à chaud, d'un certain poids sec de la levûre ensemencée et du poids de levûre résultant de la fermentation.

Il faut donc que cette cellulose et ces graisses proviennent des aliments hydrocarbonés, des sucres dont le rôle alimentaire n'est pas douteux.

On a vu précédemment les grandes analogies qui réunissent les levûres et les végétaux supérieurs, au point de vue de leur alimentation par les éléments minéraux et les sels ammoniacaux ; il paraît exister une différence complète dans l'assimilation du carbone ; en effet, la levûre l'emprunte uniquement à des substances organiques ternaires, alors que les végétaux supérieurs l'extraient d'un élément minéral,

l'acide carbonique ; mais la différence n'est qu'apparente. Les cellules à chlorophylle possèdent seules la propriété de réduire l'acide carbonique ; et nos connaissances actuelles sur la synthèse des corps organisés nous autorisent à croire que ce n'est pas le charbon qui, mis en liberté sous l'influence de la fonction chlorophylienne, s'unit à l'eau pour former de toutes pièces des substances ternaires, mais que l'action réductrice porte simultanément sur une molécule d'acide carbonique et une molécule d'eau ; il se dégage un volume d'oxygène égal à celui de l'acide carbonique, et les résidus des deux molécules restent unis sous la forme d'un composé ternaire, aldehydique par exemple, comme l'indique la formule suivante :

$$CO^2 + H^2O = OO + CH^2O$$

Ces composés ternaires, polymérisés ou non, entrent en circulation dans les sucs végétaux et sont ensuite portés aux cellules dépourvues de chlorophylle, qui se les assimilent alors seulement. Il en résulte, dans la fixation du charbon par les végétaux supérieurs, deux phases distinctes et successives, la première phase de réduction, qui se passe dans les parties pourvues de chlorophylle, et aboutit à la production de certains composés contenant charbon, oxygène et hydrogène, la seconde, phase d'assimilation de ces composés ternaires nouveaux, par les diverses cellules, et notamment par celles qui sont incolores et qui vivent absolument comme les levûres, d'un élément hydrocarboné tout formé. Les résultats de la polymérisation que nous venons d'invoquer ressortent d'ailleurs nettement de la nouvelle formule

$$6\,CH^2O = C^6H^{12}O^6$$

Aldehyde formique. Glucose.

où nous voyons une aldéhyde résultant, au moins théoriquement, de la réduction de l'acide carbonique au contact de l'eau, se transformer en glucose ou sucre de fruit.

§. 5. — *Corps fermentescibles.*

Nous avons étudié les levûres, leur composition chimique, leur origine, leur nutrition, les conditions de leur développement normal ; nous avons maintenant à nous occuper de leur fonction physiologique principale, c'est-à-dire de la fermentation alcoolique. Et d'abord quels sont les sucres fermentescibles, c'est-à-dire capables de produire de l'alcool sous l'influence de la levûre ?

Les matières sucrées se divisent en deux groupes : l'un, qui a pour type la glucose, est representé par la formule générale $C^6 H^{12} O^6$; l'autre, qui a pour chef de file la saccharose, résulte de la deshydratation des glucoses dont deux molécules s'unissent et en perdent une d'eau, pour laisser des corps dont la composition est $C^{12} H^{22} O^{11}$.

Les *glucoses* $C^6 H^{12} O^6$ se dédoublent progressivement en alcool et acide carbonique sans subir de transformation préalable ; ils comprennent :

La *glucose* proprement dite ou dextrose, sucre de raisin ou d'amidon ;

La *lévulose*, sucre de fruits acides, autrefois considérée comme incristallisable ;

La *galactose*, dérivée de la lactose par l'action des acides étendus ;

Enfin un *sucre neutre* qui n'est peut-être qu'un mélange de glucose et de lévulose en quantités rigoureusement égales au point de vue de leur action rotatoire.

Les *saccharoses* $C^{12} H^{22} O^{11}$ ne se comportent pas toutes d'une façon identique, au contact de la levûre.

Fermentent alcooliquement, après s'être assimilé d'abord une molécule d'eau :

La *saccharose*, sucre cristallisé de cannes ou de betteraves ;

La *maltose*, sucre formé par l'action des diastases sur l'amidon ;

La *mélézitose*, de la manne de Briançon ;

La *mélitose*, dont une moitié seulement donne de l'alcool, l'autre moitié se transformant en un isomère non fermentescible de la glucose, l'eucalyne.

La *mycose* de l'ergot de seigle, probablement identique à la *tréhalose*.

L'hydratation préalable des saccharoses fermentescibles s'effectue sous l'influence d'une diastase, principe azoté soluble, non organisé, et formé aux dépens des matières protéïques de la levûre ; mais elle se produit également sous l'influence des acides, de l'eau seule, et de la lumière. Dans le cas particulier et le plus intéressant de la saccharose proprement dite, il se forme un mélange à poids égaux (?) de deux glucoses isomères, mais de pouvoir optique inverse, et tous deux fermentescibles. Ce mélange de glucose cristallisable et de lévulose porte le nom de *sucre interverti*, parce qu'il dévie le plan de polarisation à gauche, tandis que le sucre de cannes le dévie à droite ($\alpha = + 73°8$) ; la déviation à gauche est due à ce que le pouvoir rotatoire moléculaire gauche de la lévulose est bien plus considérable (environ le double, $\alpha = - 106°$) que le pouvoir droit de la glucose ($\alpha = + 52°5$).

La *lactose*, sucre de lait, qui est une saccharose, ne fermente pas sous l'influence de la levûre de bière ; il faut qu'elle ait été au préalable hydratée par les acides, et dédoublée en galactose et glucose.

Les divers sucres que nous venons d'énumérer sont loin de fermenter avec la même rapidité ; les levûres manifestent des préférences pour certains d'entre eux, ainsi qu'il ressort nettement de l'étude

de la fermentation du sucre interverti par Dubrunfaut (1847). Pendant la fermentation du sucre interverti, des sirops de raisins ou de fruits bien mûrs, la rotation primitive à gauche persiste jusqu'à ce que les 2/5 environ du sucre total soient transformés en alcool, puis elle diminue en progression géométrique, tandis que l'alcool augmente en progression arithmétique. L'auteur explique la constance de la déviation pendant la première partie de l'opération par l'existence, dans le sucre interverti, d'un corps sucré inactif qui disparaît le premier. Il paraît plus rationnel d'admettre la disparition simultanée de quantités équivalentes de dextrose et de lévulose, en proportions telles qu'elles maintiennent la rotation initiale; puis, quand la glucose commence à être rare, la lévulose est attaquée en plus forte proportion, d'où la décroissance de la rotation à gauche, mais finit par rester seule à la fin de la fermentation.

Ceci nous explique pourquoi certains vins encore sucrés, dans lesquels l'action de la levûre a été paralysée par un degré alcoolique trop élevé résultant de la fermentation du moût ou d'une addition d'alcool (vinage), montrent des déviations polarimétriques presque toujours gauches; c'est ce que l'on remarque fréquemment dans les vins fortement vinés d'Espagne et d'Italie qui inondent notre territoire depuis quelques années.

§ 6. — *Produits de la fermentation alcoolique; Équations de cette fermentation.*

Les deux produits les plus importants de la fermentation alcoolique, l'alcool et l'acide carbonique, sont connus depuis longtemps; comme on l'a vu, c'est Lavoisier qui, le premier, a appliqué les procédés de l'analyse quantitative à l'étude des relations qui existent entre le sucre et ses dérivés (1789).

Partant de ce principe que rien ne se perd et ne

se crée dans la nature, que dans toute réaction chimique les quantités de matières résultantes sont égales à celles des matières mises en œuvre, que les éléments simples doivent se retrouver après l'opération en quantité et en qualité égales à celles qui existaient avant, il détermina les proportions centésimales de charbon, hydrogène et oxygène que renferment le sucre, l'alcool, l'acide carbonique et l'acide acétique dont il avait constaté la présence dans le liquide fermenté, dosa les quantités respectives de ces trois corps qui proviennent d'une quantité déterminée de sucre, et établissant le bilan de la réaction, conclut que les effets de la fermentation vineuse se réduisent à séparer en deux portions le sucre qui est oxydé, à oxygéner l'une aux dépens de l'autre pour former de l'acide carbonique, à désoxygéner l'autre au profit de la première pour former une substance combustible qui est l'alcool ; en sorte que s'il était possible de recombiner ces deux substances, l'alcool et l'acide carbonique, on reformerait du sucre.

Il formulait nettement le dédoublement du sucre par l'équation :

$$C^6H^{12}O^6 = 2\ CO^2 + 2\ C^2H^6O$$

Admettant qu'on peut négliger les produits de la fermentation autres que l'alcool el l'acide carbonique, qui en sont presque les seuls résultats sensibles, Gay-Lussac traduisit, en 1815, la formule précédente de la façon suivante : sur 100 parties de sucre, 51,34 se transforment en alcool, tandis que 48,66 donnent de l'acide carbonique ; — et cependant, comme Thénard, comme les chimistes postérieurs, Gay-Lussac arrivait à la formule du sucre $C^{12}H^{22}O^{11}$, dans l'interprétation des résultats des analyses élémentaires, tandis que l'analyse des produits de fermentation le conduisait à $C^{12}H^{24}O^{12}$ ou $2C^6H^{12}O^6$.

C'est à Dumas et Boulay que revint l'honneur de donner la véritable interprétation de cette discor-

dance apparente (1828); ils reconnurent que la formule de Lavoisier et les chiffres de Gay-Lussac sont vrais quand on part du glucose, que le désaccord ne se produit plus qu'avec la saccharose, et disparaît si l'on admet que le sucre de canne s'hydrate avant de subir la fermentation, en d'autres termes que la formule de Lavoisier doit être modifiée ainsi :

$$C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O = 4C^2H^6O + 4CO^2.$$

Ces conclusions étaient confirmées plus tard par Dubrunfaut, qui observait, en 1832, qu'avant de fermenter, le sucre de canne se transforme au préalable en sucre incristallisable, mélange de glucose et lévulose $C^6H^{12}O^6$, et par M. Berthelot, qui prouvait que ce phénomène d'hydratation était dû à un ferment soluble contenu dans la levûre.

La formule de Gay-Lussac et Lavoisier, modifiée par Dumas et Boulay, fut pendant longtemps considérée comme la traduction exacte des phénomènes de la fermentation, lorsque Schmidt de Dorpat signala la présence de l'acide succinique dans les liquides fermentés (1848).

Il était réservé à M. Pasteur de résoudre complètement et définitivement le problème, de donner la véritable interprétation du processus chimique de la fermentation ; à la suite de laborieuses recherches, il établit péremptoirement :

1° Que dans toute fermentation alcoolique il se forme, outre l'alcool et l'acide carbonique, termes principaux, de la glycérine et de l'acide succinique;

2° Que la glycérine et l'acide succinique sont produits aux dépens du sucre, sans que la levûre y prenne la moindre part;

3° Que le sucre cède en outre une certaine portion de sa substance à la levûre en voie de prolifération (pour former la membrane celluleuse d'enveloppe et les graisses du protoplasma);

4° Que l'acide lactique, dont on observe la produc-

tion, en quantité variable, dans la fermentation alcoolique, est le résultat d'une fermentation spéciale, parallèle à la première.

M. Pasteur admit qu'en moyenne, 100 grammes de sucre de canne donnent

Alcool....................	51,10
Acide carbonique...........	49,20
Glycérine..............	3,40
Acide succinique............	0,65
Cellulose, graisses, etc......	1,30
	105,65

L'augmentation de poids consécutive à l'hydratation de la saccharose est donc de 5,65.

Dans ces chiffres, n'est pas comprise la minime quantité de glycol que Henninger a admis être un produit constant de la fermentation des sucres, au même titre que la glycérine, ce qui porte à trois les espèces d'alcools qui dérivent du sucre.

Nous connaissons maintenant, d'une façon aussi complète que possible, les phénomènes intimes de la fermentation alcoolique; pouvons-nous, à l'exemple de Lavoisier, les faire rentrer dans une formule générale et rigoureuse ? Nullement ; et il suffit de remarquer, pour cela, que les déterminations analytiques qui ont permis à M. Pasteur d'établir le bilan définitif de la fermentation, ne comprennent que les substances produites en quantités assez grandes pour qu'elles puissent être appréciées par les moyens dont nous disposons dans nos laboratoires, et la découverte du glycol dans le vin, par Henninger, nous montre bien que le dernier mot n'est pas encore dit sans doute sur la fermentation. On peut cependant représenter les résultats partiels et principaux par des formules spéciales, et admettre, avec M. Pasteur, que sur 100 parties de sucre candi, 95 à 96 se transforment en alcool et acide carbonique, d'après la formule de Lavoisier, modifiée par Dumas et Boulay :

$$C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O = 4\,C^2H^6O + 4\,CO^2$$

Les 4 à 5 parties restantes, outre qu'elles donnent un peu de cellulose et de graisse, se dédoublent d'après la formule suivante proposée par M. Pasteur :

$$49\,(C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O) = \underset{\text{Ac. succinique.}}{24\,C^4H^6O^4} + \underset{\text{Glycérine.}}{144\,C^3H^8O^3} + 60\,CO^2$$

d'après laquelle 4 gr. 5 de saccharose représentent 3,60 de glycérine et 0,76 d'acide succinique, chiffres peu différents de la moyenne pour 100 que nous avons donnée précédemment.

Enfin, M. Monoyer a proposé de substituer à cette formule une équation beaucoup plus simple :

$$4\,(C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O) = 2\,C^4H^6O^4 + 12\,C^3H^8O^3 + 4\,CO^2 + O^2$$

L'oxygène mis en liberté servirait à la respiration de la levûre, opinion très plausible d'ailleurs, comme nous le verrons.

Nous avons encore à nous occuper des variations des produits principaux de la fermentation alcoolique et à dire un mot des produits accessoires.

Variations de la glycérine et de l'acide succinique. — Dans la fermentation du sucre candi, les quantités de glycérine oscillent entre 2,5 et 3,6 pour 100 du poids du sucre, et celles de l'acide succinique entre 0,5 et 0,7 ; ces quantités sont donc variables, mais le rapport entre les poids des deux corps est assez constant et égal à 5. La proportion de glycérine et d'acide succinique est d'autant plus grande que la fermentation est plus longue, que par conséquent le ferment est plus vieux, plus épuisé, ou encore qu'il trouve moins d'aliments convenables dans le liquide ; dans ces conditions, il se produit corrélativement moins d'alcool ; il en est de même si le milieu est neutre, tandis qu'une acidité même légère fait baisser la proportion de glycérine.

Ces faits ne se vérifient plus dans les fermentations industrielles ; c'est ainsi que nul liquide autant que le vin ne renferme de glycérine et d'acide succinique, et cependant le milieu est acide et contient des substances organiques et minérales qui ne paraissent pas répondre aux besoins alimentaires du ferment, dont la nature spéciale n'est d'ailleurs pour rien dans le phénomène.

Le tableau suivant, qui résume les expériences de M. Pasteur à cet égard, montre nettement les différences dans le rapport des poids de l'alcool à ceux de la glycérine.

	Composition par litre.			
	Glycérine.	Acide succiniq.	Alcool.	$\frac{\text{Alcool.}}{\text{Glycér.}}$
Liquide de fermentation de 100 gr. de sucre pur.	3,40	0,61	51,11	$\frac{51,11}{3,40}=15,0$
Vin vieux de Bordeaux...	7,41	1,48	74,0	10,0
Bordeaux ordinaire......	6,97	1,39	73,5	10,5
Bourgogne vieux........	7,34	1,47	81,0	11,0
Arbois vieux............	6,75	1,35	90,0	13,3

Ce fait que, dans les vins, la proportion de glycérine doit être de 1/10 à 1/14 du poids de l'alcool, est utilisé dans la recherche des falsifications, pour reconnaître si un vin a été viné, c'est-à-dire alcoolisé, ou au contraire additionné de glycérine.

Outre les produits principaux de la fermentation alcoolique qui ont été indiqués, on trouve toujours, dans les liquides fermentés, mais en minimes quantités, de l'acide acétique qui prend naissance même à l'abri absolu de l'air (Duclaux), et des homologues supérieurs de l'alcool ordinaire, tels que alcools propylique, butylique, amylique, caproïque, œnanthilique, caprylique, qu'on obtient comme résidu, dans la rectification industrielle des alcools des distilleries, sous la forme d'un liquide huileux, plus ou moins

coloré en brun, d'une odeur forte et désagréable, ne se mélangeant qu'en partie avec l'eau. Ce produit, connu sous le nom de *fuseloel* ou huile de pomme de terre, est formé en majeure partie d'alcool amylique qui communique ses propriétés éminemment délétères aux alcools mal rectifiés qu'on livre à la consommation, additionnés aux vins étrangers ou sous forme d'eau-de-vie et de liqueurs.

Suivant M. Berthelot, on peut représenter la production de tous ces homologues de l'alcool ordinaire, aux dépens du sucre, par l'équation générale :

$$\frac{n}{4}(C^6H^{12}O^6) = C^nH^{2n+2}O + \frac{n}{2}CO^2 + \frac{n-2}{2}H^2O$$

Nous avons déjà fait mention d'un glycol, l'isobutylglycol, trouvé en 1882 par Henninger dans un vin de Bordeaux, en opérant par la méthode des distillations fractionnées sur 50 litres de liquide qui ont fourni à l'auteur 6 grammes de produit.

Nous terminerons ce chapitre relatif à l'équation chimique de la fermentation alcoolique, en rappelant l'action différente des diverses levûres qui, ensemencées dans un même moût d'orge germé, donnent des bières de saveur complètement différentes pour chacune d'elles ; on ne peut expliquer ce phénomène que par la production de divers produits secondaires caractérisés par leur saveur spéciale, produits variables de qualité et de quantité avec chaque levûre ; ce qui revient à dire, avec M. Pasteur, qu'à chaque levûre correspond une équation particulière d'action fermentative.

Nous connaissons maintenant les conditions de l'alimentation de la levûre ; nous avons passé en revue les divers corps qui prennent naissance sous son influence pendant la fermentation du sucre ; nous avons encore à nous occuper de certaines conditions de milieu qui jouent un rôle important dans la fonction ferment de cette levûre. Nous n'insisterons

pas sur l'importance de l'eau, sans laquelle la levûre pas plus que tout organisme, ne peut vivre.

§ 7. — *Rôle de l'oxygène. — Respiration de la levûre.*

Les levûres absorbent avec énergie l'oxygène dissout dans les liquides aqueux, que ceux-ci renferment ou non des substances nutritives ou fermentescibles, et exhale une quantité correspondante d'acide carbonique. Ce fait, mis en lumière par M. Pasteur, a été étudié analytiquement par M. Schutzenberger à l'aide du procédé de dosage de l'oxygène par l'hydrosulfite qu'il a imaginé avec M. Risler.

M. Schutzenberger a établi que l'activité respiratoire de la levûre est la même à la lumière que dans l'obscurité, qu'elle est indépendante de la masse de levûre aussi bien que de la quantité d'oxygène dissoute dans l'eau où l'on délaye la levûre, enfin qu'elle est sous la dépendance directe de la proportion de matière oxydable qu'elle renferme, ainsi que de la température. Les chiffres suivants, relatifs à la quantité d'oxygène absorbée par l'unité de poids de levûre, dans l'unité de temps et à des températures croissantes, fixeront les idées,

	Quantité d'oxygène absorbée par 1 gr de même levûre	
Températures.	Humide.	Sèche.
9°	0cc14	0cc56
11°	0 42	0 68
22°	1 20	4 80
38°	2 10	8 40
40°	2 06	8 20
50°	2 40	9 60
60°	0 00	0 00

Cette absorption d'oxygène est en corrélation avec la vie de la cellule, puisqu'à la température de 60°, à laquelle celle-ci est tuée, l'absorption devient nulle.

Elle se produit même à l'égard du gaz combiné à l'état de tension, comme il l'est dans le sang ; ainsi, du sang rutilant ou une solution d'hémoglobine saturée d'oxygène passent rapidement de la teinte rouge vif du sang artériel à celle du sang veineux noirâtre, quand on y ajoute un peu de levûre délayée dans l'eau.

M. Schutzenberger a basé sur ce résultat une expérience très jolie, destinée à faire comprendre l'absorption de l'oxygène du sang artériel dans les capillaires des tissus, et sa transformation en sang veineux. On fait circuler du sang défibriné et saturé d'oxygène à travers un long tube en baudruche mince plongé dans du sérum bien exempt de globules sanguins, contenant de la levûre de bière en suspension, et chauffé à 35 degrés ; le sang sort à l'extrémité avec la coloration brun noir du sang veineux, tandis qu'il reste rouge si le sérum ne contient pas de levûre,

Quelle est maintenant, dans la levûre, la matière qui fixe ainsi l'oxygène ; l'expérience démontre que ce sont les éléments contenus dans le liquide d'imprégnation, — car la levûre lavée possède une activité respiratoire moindre qu'à l'état frais, — et que ces éléments sont des produits d'excrétion de la levûre qu'elle fabrique aux dépens de ses tissus ; car cette même levûre lavée recouvre peu après son activité respiratoire initiale.

Il est très intéressant de se rendre compte du rôle exact que joue l'oxygène pendant la vie de la levûre ; il suffit pour cela de reprendre les expériences de Pasteur à ce sujet.

Dans un premier cas, on sème la levûre dans un liquide sucré contenu sous une très faible épaisseur dans une large cuvette où l'accès de l'air est aussi favorisé que possible vers la profondeur du liquide, en choisissant de préférence de la levûre haute pour qu'elle s'aère bien ; on interrompt l'opération dès qu'une couche de ferment s'est déposée au fond du

vase. On trouve alors que le développement de la levûre a été le plus abondant possible, ou encore que le rapport du poids de sucre disparu au poids de levure produite est le plus faible qu'on puisse obtenir: l'auteur a trouvé ainsi le chiffre 4. Chose curieuse, la production d'alcool est insignifiante; par conséquent la majeure partie du sucre disparu est employée en partie pour former les éléments ternaires du ferment nouveau; le reste disparaît brûlé complètement et transformé en acide carbonique. Nous verrons bientôt que, dans ces conditions, la levûre se comporte comme les moisissures; et nous pouvons déjà conclure que sa fonction de ferment alcoolique n'est pas compatible avec la présence d'une quantité abondante d'oxygène, avec une respiration active.

Instituons l'expérience inverse; introduisons dans un ballon plein de solution sucrée, purgée d'air par l'ébullition, une trace de ferment jeune et bien actif, à l'aide d'un de ces procédés opératoires si ingénieux dont M. Pasteur nous a révélé le secret. La fermentation commence, rapide d'abord, puis se ralentit et devient interminable. Quand elle est enfin terminée, il s'est produit très peu de levûre, 1 pour 80 à 90 de sucre fermenté; mais la presque totalité de celui-ci a subi une fermentation alcoolique très régulière.

Cette fois, la consommation du sucre aux dépens de l'oxygène a été nulle, en tout cas insignifiante; le faible développement du ferment n'a absorbé que bien peu d'hydrate de carbone; mais si la vitalité de ce ferment, manifestée par son peu de développement, est tombée à son minimum, son pouvoir ferment s'est développé considérablement et s'est manifesté par la transformation de la presque totalité du sucre en alcool et acide carbonique.

Enfin, dans une troisième et dernière expérience, semons la levûre jeune dans un liquide albumineux, tel que l'eau de levûre exempte de sucre ou contenant un sucre non fermentescible, tel que la lactose;

si le liquide est soustrait au contact de l'air, la levûre ne bourgeonne pas du tout ; elle se multiplie encore si, au contraire, l'oxygène peut arriver librement à son contact.

De tous ces faits il ressort, comme le dit M. Schutzenberger : « que la levûre, comme les plantes ordinaires, bourgeonne et se multiplie, même en l'absence de sucre fermentescible, lorsqu'on lui fournit de l'oxygène libre ; que cependant cette multiplication est favorisée par la présence du sucre qui serait un élément plus approprié que les composés hydro-carbonnés non fermentescibles ; enfin, que la levûre peut se multiplier et bourgeonner en l'absence de l'oxygène libre, mais dans ce cas une substance fermentescible est indispensable. »

On peut encore interpréter les faits de la manière suivante : « 1° Le concours de l'oxygène et des combustions qui en sont une conséquence, est nécessaire au développement et à la multiplication de la vie cellulaire. Ce fait est surabondamment établi par les êtres et les organes du règne végétal ; — 2° la levûre possède la faculté de décomposer le sucre qui pénètre par endosmose dans l'intérieur de la cellule, en alcool, acide carbonique, glycérine, acide succinique et oxygène. »

Reportons-nous, en effet, à la formule proposée par M. Monoyer (p. 103) ; nous y trouvons un excès d'oxygène libre ; rien n'empêche de supposer que cet oxygène sert à la respiration de la levûre.

Nous reviendrons sur ces conséquences quand nous exposerons la théorie de la fermentation d'après les idées de M. Pasteur. Disons seulement que, dans la pratique, dans la fermentation des vins, des moûts ou des liquides sucrés destinés à fabriquer de l'alcool, on tend de plus en plus à tenir un compte judicieux du résultat des deux expériences opposées de M. Pasteur, c'est-à-dire que, sans chercher à éviter

absolument le contact avec l'air, sans produire non plus une aération trop grande des moûts et liquides sucrés, on maintient l'activité de la levûre dans un juste milieu ; on évite la combustion complète d'une trop grande partie de l'alcool en opérant dans des cuves profondes dont le contenu est recouvert de la couche d'acide carbonique produite par la fermentation et qui s'y maintient grâce à sa pesanteur spécifique plus grande que celle de l'air ; mais on imprime au ferment une activité plus grande et, par suite, on diminue la durée de la fermentation en laissant à l'oxygène extérieur un certain accès sur le liquide. Le critérium d'une bonne fermentation, au point de vue industriel, consiste en effet dans cet ensemble de conditions : fermentation, c'est-à-dire disparition du sucre, rapide, et production maximum d'alcool.

Ajoutons encore, avant de terminer cette étude sur la respiration de la levûre, que la nécessité de l'oxygène pour le fonctionnement de cet organisme est tellement vraie que quand, vers la fin d'une de ces longues fermentations à l'abri de l'air, les cellules vieillies et dégénérées du ferment ont absorbé tout l'oxygène accumulé à l'état latent dans leur protoplasma, et n'ont plus d'énergie, elles reprennent une vitalité nouvelle, bien que momentanée, quand on fait arriver dans le liquide saturé d'acide carbonique quelques bulles d'air ou d'oxygène ; et l'on voit alors le dégagement de gaz reprendre rapidement et durer quelques jours.

§ *8. Vie de la levûre sur elle-même, autophagie de la levûre.* (Duclaux.)

Dans toute fermentation alcoolique où la quantité de levûre ne dépasse pas 40 pour 100 du poids de sucre, la fermentation s'arrête toujours dès que tout le sucre a été transformé ; et l'on peut être sûr qu'avec la

dernière bulle de gaz carbonique a disparu la dernière trace de sucre décelable par la liqueur cupro-potassique.

Il en est autrement quand le poids de levûre est plus considérable ; la fermentation ou plutôt le dégagement du gaz continue encore longtemps après la disparition complète du sucre, et le volume de ce gaz devient plus considérable que le volume théorique donné par le poids de sucre mis en œuvre ; c'est ainsi qu'avec un poids de levûre 20 fois plus grand que celui du sucre, M. Pasteur a obtenu trois fois la quantité d'acide carbonique que devait donner le sucre ; il a constaté aussi que la proportion d'alcool produite était sensiblement plus grande que celle que devait donner le sucre seul. Cet excès d'acide et d'alcool s'était formé aux dépens de la substance même de la levûre. Mais en même temps, des modifications profondes se produisent dans la levûre, analogues à celles de la levûre humide abandonnée à elle-même à 25 ou 30° ; dans ce dernier cas, et sans qu'il y ait eu putréfaction, ce que démontre l'absence des microbes, la levûre change d'aspect, se ramollit, et abandonne à l'eau une proportion anormale de principes solubles. C'est ainsi que M. Béchamp n'a plus obtenu, après lavage, que 23 gr. de substance sèche provenant de 100 gr. de levûre ramollie, laquelle à l'état frais laissait un résidu fixe et insoluble de 30 gr. La perte a donc été de 8 gr. ; l'eau de lavage renfermait de l'acide acétique, beaucoup de ferment inversif, une albumine soluble coagulable à chaud, une matière gommeuse voisine de l'arabine, donnant de l'acide mucique sous l'influence de l'acide azotique, de la leucine, de la tyrosine, une matière sirupeuse incristallisable, enfin de notables proportions de phosphates alcalins et alcalino-terreux.

M. Schutzenberger a confirmé les résultats de M. Béchamp, et a reconnu, en outre, dans l'extrait

aqueux de levûre ramollie, la présence des dérivés azotés du groupe de la sarcine qui n'avaient pas encore été signalés dans l'économie végétale. Tous ces corps azotés sont des produits du dédoublement des matières albuminoïdes qui s'effectue au laboratoire sous l'influence des réactifs, acides ou alcalis, ainsi que dans la putréfaction sous l'influence des bactéries, et dans les tissus animaux par suite des processus normaux de desassimilation ; c'est encore là un point de ressemblance de plus entre les phénomènes de la vie dans cet organisme microscopique et chez les êtres élevés de la série végétale et animale.

§ 9. — *Conditions de l'action des levûres.*

Nous allons, dans ce chapitre, étudier les conditions dans lesquelles les levûres manifestent leur action sur les sucres, dans un milieu pourvu des éléments nutritifs qui leur sont nécessaires, en nous inspirant surtout des travaux de M. Dumas.

Influence des quantités de levûre et de temps. — La fermentation alcoolique constitue un phénomène assez régulier pour des conditions constantes. C'est ainsi que, dans quatre essais, 40 gr. de levûre ont fait disparaître, en 16 minutes au plus, un gramme de glucose dissout dans 200 fois son volume d'eau ; avec le sucre candi, pour les mêmes quantités de levûre de sucre et d'eau, il a fallu 34 minutes, soit 2 fois plus de temps, ce qui revient à dire qu'il faut autant de temps à la levûre pour faire fermenter la saccharose que pour lui faire subir l'interversion préalable.

Un excès de levûre au delà de la quantité nécessaire, ne diminue pas le temps nécessaire à la fermentation ; ce temps est proportionnel à la quantité de sucre, ainsi que le prouvent les chiffres suivants, relatifs à la fermentation de quantités croissantes de

sucre dissoutes dans 150 cent. cubes d'eau additionnés de 20 gr. d'une même levure.

Quantité de sucre.	Temps.	Rapports.
0gr5	55 minutes.	0.5
1	108 —	1
2	215 —	2
4	430 —	4

Ce résultat montre la régularité du phénomène ; ce qui tient à la multiplicité des corpuscules de levûre parmi lesquels les légères différences individuelles qui peuvent exister dans leur activité fonctionnelle disparaissent devant le nombre énorme des élément actifs ; Dumas a calculé, en effet, que les 10 gr. de levûre des expériences précédentes contiennent de 20 à 30 milliards de cellules, ce qui revient à dire que pour détruire 1 centigr. de sucre en 1 minute, il faut de 20 à 30 millards de globules de levûre.

Influence de la température. — Quelles sont les limites supérieures et inférieures de température au delà et en deçà desquelles la vie de la levûre est détruite ? Quels sont les limites entre lesquelles elle manifeste son activité ? telles sont les questions auxquelles nous allons répondre.

La levûre très fraîche meurt à 66°,5 suivant Wiessner, tandis que Hoffmann donne comme température limite, 76° à 83°, et Meyer 53° à 60°. La levûre qui a été desséchée avec précaution à basse température peut ensuite être chauffée à 100° sans perdre sa vitalité. Cagnard-Latour, Melsens et Schumacher ont démontré qu'elle peut supporter des froids excessifs allant même jusqu'à 100° au-dessous de zéro ; mais il faut, après congélation, ne la soumettre qu'à des variations progressives de température très lentes pour amener la fusion de l'eau d'imprégnation congelée.

La levûre ne commence à agir comme ferment

que vers 8 à 10°; la température la plus favorable à son activité pour une bonne fermentation paraît être de 25 à 30°; aussi la fabrication des bières basses exige-t-elle une température de 2 à 3° au minimum.

Action de la lumière et de l'électricité. — Dumas a trouvé que la lumière favorise la fermentation; pour ce qui est de l'électricité, son influence sur la levûre paraît nulle, aussi bien au point de vue de son action inversive que de son pouvoir ferment.

Influence des gaz. — On a vu précédemment le mode d'action de la levûre sur les sucres, suivant qu'il y a ou non présence d'oxygène libre. Les levûres laissées pendant 3 jours au contact de divers gaz, oxygène, hydrogène, azote, oxyde de carbone, protoxyde d'azote, gaz des marais, n'ont pas été sensiblement influencées dans leur action ultérieure sur les liquides sucrés.

Influence de la pression. — La vitalité de la levûre a résisté à la pression énorme de 8000 atmosphères; l'action fermentative paraît plus active à une pression inférieure qu'au-dessus de 760 millimètres. M. Boussingault a observé que si l'on fait le vide au-dessus d'un liquide alcoolique maintenu entre 35 et 40 degrés, l'élimination de l'acide carbonique et de l'alcool favorise l'action de la levûre mise en excès dans le liquide, et la disparition des dernières traces de sucre est beaucoup plus rapide; c'est ainsi que l'auteur a fait complètement disparaître, en 6 heures, 190 grammes de sucre réducteur par litre, dans un vin sucré additionné, pour 500 cent. cubes, de 3 à 6 grammes de levûre de bière. Il se forme d'ailleurs, dans ces conditions, une quantité de glycérine en harmonie avec les résultats de M. Pasteur, soit 2 gr. 5 à 2 gr. 9 par 100 gr. de glucose.

Influence de l'eau. — Les globules de levûre doivent, pour être aptes à produire la fermentation, renfermer une quantité d'eau dont le minimum est de 40 à 80 pour 100, suivant Wiessner. Cette pro-

portion d'eau est sous la dépendance immédiate des échanges par osmose qui se passent entre les globules et le liquide extérieur, et par suite en relation avec la richesse de ce liquide en sucre et en alcool (Mandl). Quand la quantité d'eau descend au-dessous de 13 o/o, la mort survient si la soustraction de liquide a été rapide. Quand on a soin de dessécher très lentement la levûre, à la température ordinaire, on peut la conserver très longtemps sans lui faire perdre son activité qu'elle reprend dès qu'on lui restitue l'eau qu'elle a perdue.

Influence de l'alcool. — Lorsque la proportion d'alcool contenue dans le liquide atteint 16 à 17 pour 100, la fermentation s'arrête pour reprendre si l'on étend le liquide d'eau. C'est pour cela que les vins d'Espagne, vinés à 16° et encore sucrés, déterminent la fermentation des coupages dans lesquels on les fait entrer, fait bien connu des marchands de vin.

Action des métalloïdes. — Nous avons déjà parlé du rôle de l'oxygène qui fait disparaître plus ou moins complètement le caractère ferment de la levûre, tout en favorisant au maximum sa fructification. L'oxygène comprimé endort la levûre de bière, lui enlève son caractère ferment, mais lui laisse son action inversive qui appartient d'ailleurs, à la diastase qu'elle sécrète (Paul Bert). La présence du soufre ne ralentit pas la fermentation; mais il se forme un peu d'hydrogène sulfuré, dans la proportion de 1 à 2 pour 100 d'acide carbonique.

Influences des acides et des bases. — La levûre se trouve bien d'une petite quantité d'acide ; les bases en proportion minime n'arrêtent pas non plus la fermentation ; mais un excès des deux espèces chimiques y met rapidement fin. Ce résultat est atteint par une quantité d'acide égale à 100 fois l'acidité normale de la levûre, ou d'ammoniaque équivalente à 24 fois cette acidité (Dumas).

Action des sels. — Parmi les nombreux sels dont

M. Dumas a étudié l'action sur la levûre, après un contact de trois jours avec des solutions saturées à froid, dans la proportion de 1 de levûre pour 30 à 40 de solution en poids, les uns sont sans action (tartrate de potasse, hyposulfite de chaux, bisulfite de soude, cyanures jaune et rouge, sulfocyanure de potassium, alun, sulfate de zinc, etc...) ; les autres la retardent et l'arrêtent avant la transformation complète du sucre (bisulfite, iodure et arséniate de potassium, hyposulfites de soude et de potasse, borax, savon alcalin, tacheté d'ammonium, etc...) ; d'autres encore n'empêchent pas une interversion partielle, mais empêchent toute fermentation (chromate et bichromate de potasse, chlorures de sodium et d'ammonium, cyanure de mercure, etc...) Enfin, une dernière catégorie met obstacle aussi bien à la fermentation qu'à l'interversion du sucre (cyanure de potassium, sulfure de sodium, etc.).

Action de certains corps. — L'acide prussique à dose suffisante arrête l'action de la levûre, à dose plus forte la tue, sans agir sur la propriété inversive. Le chloroforme ralentit seulement la fermentation qui est également entravée par l'oxyde de mercure, le calomel, le peroxyde de manganèse, certaines huiles essentielles (citron, térébenthine), les alcaloïdes (strychnine, quinine), le phénol, la créosote, etc.

L'action de l'acide salicylique varie avec la proportion de levûre ; 0 gr. 02 suffisent pour paralyser l'action de 0 gr. 5 de levûre sèche dans 100 centim. cubes de moût, mais ne produisent aucun effet avec une quantité supérieure de levûre.

§. 10. — *Fermentation alcoolique en l'absence de levûre.*

Nous abordons maintenant un chapitre d'un intérêt extrême, parce que les conséquences qui en

découlent, associées aux phénomènes vitaux que manifeste la levûre suivant qu'elle est privée ou non d'oxygène, vont nous conduire tout droit à la conclusion de cette partie de notre travail, à la théorie de la fermentation suivant les idées de M. Pasteur.

Nous venons d'étudier la transformation des sucres en alcool sous l'influence des levûres, ferments unicellulaires du règne végétal. Nous allons voir des organismes plus compliqués, et même des plantes des plus élevées dans la série des végétaux, produire les mêmes dédoublements.

Des végétaux plus parfaits que les levûres, et connus sous le nom général de moisissures, tels que le *penicillium glaucum*, l'*aspergillus glaucus*, les *mucor racemosus, mucedo, circinelloïdes* et *spinosus*, qui, normalement, se développent à la surface des moûts sucrés, fructifient aux dépens d'une partie des principes organiques qu'ils trouvent dans ces liquides, et brûlent le reste du sucre avec le concours de l'oxygène de l'air pour donner de l'acide carbonique ou d'autres acides (acide oxalique), et de l'eau. Cette intervention de l'oxygène est bien réelle; si l'on submerge ces moisissures pour les soustraire au contact du gaz libre, la végétation mycélienne en est profondément modifiée et remplacée par un bourgeonnement en cellules plus ou moins rondes qui les font ressembler énormément à la levûre : en même temps les phénomènes chimiques qui se produisent sous l'influence de la plante, sont complètement changés, et le sucre est transformé en alcool et acide carbonique. Avec les *penicillium* et les *aspergillus*, la quantité d'alcool produite est toujours très faible, à cause du peu d'activité de la vie dans ces nouvelles conditions : elle est plus considérable avec les mucor qui se prêtent mieux à la privation d'oxygène, mais reste toujours notablement inférieure au chiffre que peut donner la levûre, et ne dépasse jamais 5 à 5,5 d'alcool pour 100 de liquide. Ainsi à la fin d'une

fermentation sous l'action du *Mycoderma racemosus*, le liquide renfermait, pour 120^{cc}, 4 gr. 1 d'alcool, et il s'était formé seulement 0 gr. 25 de ferment moisissure à l'état sec (Pasteur).

Il est remarquable que cette espèce de levûre de mucédinée, replacée à l'air dans les conditions de son existence habituelle, reprend les formes connues de la moisissure aérienne ; et vainement on tenterait de produire cette transformation avec un saccharomyces.

Le mycoderma vini qui, vivant à la surface des liquides alcooliques fermentés, les épuise si rapidement de leur alcool qu'il combure, devient aussi ferment alcoolique quand on le prive d'oxygène par submersion (Pasteur).

La transition entre ces deux catégories d'êtres, dont les uns, vivant au contact de l'air, brûlent complètement le sucre, tandis que les autres, soustraits au contact de l'oxygène, dédoublent la majeure partie de sucre en alcool et acide carbonique, nous est donnée par la *Mycolevûre* découverte par M. Duclaux. Elle se développe souvent à la surface du liquide de Raulin exposé en grande surface à l'air et contenant une proportion moitié moindre d'acide tartrique, et forme un voile régulier constitué par une infinité de cellules ovoïdes rappelant tout à fait la levûre par leur aspect, leur grosseur, leur, mode de bourgeonnement ; en cet état, la mycolevûre est un agent énergique d'oxydation et se comporte comme une mucédinée; dans ces conditions elle se développe avec abondance et peut atteindre jusqu'à 35 pour 100 du poids de sucre disparu. Vient-on à la submerger à l'abri de l'air dans un moût sucré, son développement se ralentit, et la quantité d'éléments cellulaires nouveaux diminue considérablement et peut tomber à 1/39 du poids du sucre; mais alors se produit une véritable fermentation, avec production d'alcool et d'acide carbonique. Seulement, comme pour les moisissures, la quantité

d'alcool est encore très faible et ne dépasse pas 3 pour 100.

Voici des faits du même ordre, mais relatifs à des végétaux élevés dans la série. En 1821, Bérard avait fait voir que, pendant leur maturation, les fruits encore verts, exposés au soleil, absorbent l'oxygène et dégagent un volume à peu près égal d'acide carbonique ; si on les laisse dans une atmosphère limitée dont ils remplacent l'oxygène par l'acide carbonique, ils continuent à exhaler des quantités notables de ce gaz ; mais en même temps le sucre disparaît « comme par une sorte de fermentation ». Le fruit n'est pas pourri : son aspect et son goût se sont seuls modifiés ; il semble être devenu plus acide, à cause de la diminution de sucre. Bérard laissait échapper la partie principale du phénomène, la production d'alcool. M. M. Lechartier et Bellamy reprirent, en 1869, les expériences de Bérard, mais hâtèrent les transformations en introduisant immédiatement les fruits dans une atmosphère exempte d'oxygène ; ils reconnurent la transformation en alcool du sucre disparu, sans que le microscope révélât dans la pulpe du fruit la moindre trace de levûre. En même temps le fruit a subi des modifications profondes ; son parenchyme est devenu brun comme celui des fruits blets ou pourris ; le tissu cellulaire est plus ou moins complètement désagrégé, et, par cette espèce d'autodigestion, une poire duchesse ressemblait, au bout d'un an, à une masse sirupeuse contenue dans un sac. Il est inutile d'ajouter que, dans toutes leurs expériences, les auteurs ont opéré sur des fruits dont l'enveloppe extérieure était absolument indemne de toute avarie. Toutes sortes de fruits, pommes, poires, figues, cerises, groseilles, châtaignes, prunes, citrons, etc..., ont ainsi donné de l'alcool, à l'abri de l'air. Il en a été de même des feuilles de cerisier, de groseillier, de betteraves.

Ces résultats ont été contrôlés et reconnus exacts

par M. Pasteur qui a surtout insisté sur l'énergie des réactions chimiques qui se passent dans les fruits plongés dans l'acide carbonique, et qui a démontré que l'hypothèse de la production d'un ferment aux dépens de l'organisme végétal, dans l'intérieur des fruits, émise par M. Frémy, est absolument fausse, et qu'il ne faut voir dans cette fermentation intracellulaire qu'une conséquence immédiate de fonctions biologiques de la cellule vivante. Il faut lire le chapitre qu'a consacré à ce sujet M. Pasteur dans son beau livre les « *Etudes sur la bière* » pour voir avec quelle précision l'expérience venait corroborer l'intuition qu'il avait du phénomène ; nous allons voir maintenant quel appui solide ces phénomènes ont prêté à sa théorie de la fermentation.

M. Müntz a montré depuis que des plantes entières, et non plus de fragments de végétaux (vigne, betterave, maïs, choux, etc...), placées dans de l'azote pur, se chargent également d'alcool.

M. Pasteur explique les phénomènes chimiques qui se passent dans les fruits pendant leur maturation, par la continuation de la vie de leurs cellules, après leur séparation de l'arbre. Au libre contact de l'air, la cellule absorbe l'oxygène et exhale de l'acide carbonique formé par la combustion d'une partie de ses principes constituants, notamment du sucre. Elle puise dans la chaleur produite l'énergie nécessaire pour l'entretien de la vie. A l'abri de l'oxygène, il n'y a plus combustion totale, mais simple dédoublement en alcool et acide carbonique ; cette réaction, qui est exothermique, c'est-à-dire accompagnée d'une mise en liberté de chaleur, fournit encore à la cellule son énergie, mais en moindre quantité ; il en est de la cellule du fruit exactement comme de celles des moisissures submergées ou non.

Il résulte de tous les faits que nous venons d'examiner que la fermentation alcoolique ne doit plus être envisagée comme le résultat exclusif de l'action

biologique d'un être vivant spécial et caractéristique comme la levûre, qui aurait seul le pouvoir de dédoubler les corps sucrés en produits déterminés, parmi lesquels se trouve l'alcool au premier rang, mais qu'elles ne sont que des cas particuliers de l'activité chimique des cellules vivantes placées dans des conditions spéciales.

La conséquence forcée de cette multiplicité d'agents producteurs d'alcool, est la diffusion extrême de ce corps à la surface de la terre; aussi, M. Müntz en a-t-il constaté la présence dans l'eau et dans le sol; les eaux de pluies, l'eau de mer et certaines eaux fluviales (Seine) en contiennent environ 1 gramme par mètre cube; la neige et les pluies froides paraissent en renfermer un peu plus; et il est évident qu'il ne peut provenir que de l'air, dans lequel on ne l'a pas encore recherché à cause de la difficulté de l'opération.

§ 11. — *Théorie de la fermentation alcoolique.*

Nous avons décrit les deux expériences capitales de Pasteur destinées à montrer l'action physiologique si différente de la levûre sur le sucre, suivant qu'il y a ou non contact avec l'oxygène de l'air. Nous savons maintenant que cette levûre possède au maximum son caractère ferment, lorsqu'elle est privée d'air; en effet, dans les conditions ordinaires de son fonctionnement, la levûre se développe dans un liquide recouvert par une couche d'acide carbonique provenant de la fermentation et qui l'isole plus ou moins de l'air ambiant; la levûre fructifie peu, mais la production d'alcool est très grande. Au contraire, le libre accès de l'air détermine une fermentation tumultueuse, par suite de la combustion complète du sucre qui fournit des torrents de gaz carbonique; il se forme très peu d'alcool; en re-

vanche, le bourgeonnement et la multiplication des cellules de levûre est considérable et atteint son maximum.

Cherchons à établir, dans son essence, le rôle de l'oxygène dans la fermentation. Une cellule vivante ne vit qu'à la condition de produire autour d'elle une certaine somme de travail positif, pour lequel elle dépense l'énergie qu'elle puise dans la combustion de ses aliments et de ses propres matériaux constituants. La vie de cette cellule n'est donc que le résultat du conflit entre l'oxygène, d'une part, et les substances alimentaires, de l'autre; et plus ce conflit se fera avec intensité, plus il y aura d'aliments brûlés, plus il y aura d'énergie disponible, plus grande sera la vitalité de la cellule. Or, dans les conditions normales de la fermentation, nous admettons que les matières alimentaires ne font jamais défaut ; voyons donc ce qui se produit, suivant que la quantité d'oxygène mise à la disposition des globules de levûre est plus ou moins grande.

Considérons le premier cas où l'accès de l'oxygène est facile ; c'est alors que nous voyons coïncider avec le maximum de développement de la levûre, la combustion la plus complète du sucre; l'énergie que puise la levûre dans la combustion du sucre, au libre contact de l'oxygène, est employée en partie seulement à l'édification des tissus nouveaux, à la production des jeunes cellules; la plus grande quantité sert à la dépense d'entretien, mais aussi à la production de chaleur extérieure et de travail effectué, et passe sous forme d'énergie chimique dans les produits d'excrétion. Or, nous nous trouvons précisément dans le cas où la combustion du sucre est complète, où il y a le moins d'alcool produit, où se forme le maximum des produits d'excrétion les plus riches en énergie chimique. L'oxygène a donc servi à la production de ce maximum d'énergie dépensée surtout en produits de combustion complète.

Supposons au contraire la levûre complètement soustraite au contact de l'air ; si elle continue à vivre, si même elle se développe encore, bien que faiblement, il lui faut toujours de l'énergie; où la puisera-t-elle, puisqu'elle ne la trouve plus dans la combustion de ses aliments? Evidemment dans la réaction chimique caractérisée essentiellement par le dédoublement du sucre en alcool et acide carbonique. Ou bien nous admettrons la formule théorique de M. Monoyer, et nous dirons que la levûre utilise la petite quantité d'oxygène qui devient libre et qui sert à des combustions d'intensité proportionnelle au volume de gaz dégagé, ou bien, rejetant cette hypothèse d'une production accessoire d'oxygène, et nous adressant exclusivement au dédoublement du sucre, nous serons conduits à admettre qu'il doit s'effectuer avec dégagement de chaleur; c'est en effet, et nous l'avons déjà dit, ce qui se produit. Il résulte des chiffres donnés par M. Berthelot, que la combustion complète d'un équivalent de sucre de raisin pesant 180 grammes donnerait en brûlant 713,000 calories, mais qu'en se dédoublant, il donne naissance à deux équivalents d'alcool dont la combustion produirait $2 \times 321{,}000 = 642{,}000$ calories ; la différence entre les deux chiffres, soit 71,000 calories, représente la chaleur mise en liberté pendant le dédoublement, ou encore celle qu'il faudrait restituer à l'alcool et à l'acide carbonique pour régénérer le sucre. Cette quantité de chaleur équivaut donc à peu près à 1/10 de celle que donnerait la combustion complète au contact de l'oxygène.

Cette production de chaleur en dehors du contact de l'oxygène n'est d'ailleurs pas théorique ; et en effet, l'observation est constante de l'élévation de température dans tous les liquides en fermentation, élévation variable évidemment avec la grandeur des vases, l'activité de la fermentation, la proportion de sucre, le rayonnement, etc., et qui peut attendre 15

à 20 degrés. Toute le monde connaît l'échauffement de la vendange, pendant la fabrication du vin ; on sait encore que l'on est obligé, dans les fermentations basses, d'empêcher l'élévation de température du moût de bière par l'emploi de bacs nageurs contenant de la glace.

Ainsi donc, au contact de l'air, la chaleur dégagée est maximum par suite de la combustion complète de la glucose, et le végétal possède son maximum d'énergie qui se manifeste déjà par sa prolifération rapide; à l'abri de l'air, au contraire, le ferment ne trouve plus son énergie que dans la chaleur dégagée par le dédoublement du sucre en alcool, chaleur qui n'est que le dixième de ce qu'elle était précédemment ; l'énergie disponible étant ainsi considérablement réduite, le végétal doit, pour vivre, consommer, dans le même temps, dix fois plus de sucre ; et ce chiffre peut s'élever lui-même suivant la nature du ferment et les conditions de température. C'est ce qui explique la grandeur du rapport d'effet à cause, dans la fermentation.

En résumé, nous pouvons conclure avec M. Pasteur que le caractère ferment est inséparable de la vie anaérobie. Nous arrivons alors à la division proposée par l'illustre savant, des organismes unicellulaires en aérobies et anaérobies, ces derniers seuls constituant les véritables ferments.

Certains d'entre eux, comme le mycoderma aceti ferment du vinaigre, le ferment butyrique, n'ont qu'une seule manière de vivre, le premier au contact de l'oxygène, le second, au contraire, à l'abri de ce gaz. D'autres peuvent s'accommoder d'une atmosphère oxygénée ou vivre à l'abri de l'air, mais préfèrent l'un ou l'autre mode ; ainsi les moisissures ont leur maximum d'action à l'air.

Enfin le ferment vit indifféremment comme aérobie ou anaérobie, mais alors l'action physiologique diffère complètement dans les deux cas : telle est la levûre.

Ces conclusions de M. Pasteur ont été souvent contestées, et on lui a toujours objecté que rien ne prouve que, dans les expériences, les liquides ensemencés fussent exempt de toute trace d'oxygène. Il est facile de montrer combien est spécieuse cette objection : dans une fermentation, 150 gr. de glucose disparaissent avec production d'un peu plus de 1 gr. de levûre ; on ne peut raisonnablement songer à attribuer un seul instant, à la trace d'oxygène qui a pu rester dans les appareils après qu'on les a purgés d'air aussi bien que possible, trace qui ne présente peut-être pas un milligramme, le développement notable du végétal et l'acte chimique qu'il a produit.

Mais si le ferment doit être anaérobie pour posséder son caractère essentiel, il ne s'en suit pas qu'une petite quantité d'oxygène soit nuisible, bien au contraire. Nous avons déjà dit que, quand la fermentation traîne, par suite de l'état de dépérissement des cellules de levûre qui sont vieilles et ne prolifèrent plus, elle reprend une sérieuse activité si l'on fait arriver à leur contact un peu d'oxygène gazeux. Comme le dit Henninger : « le ferment vieux est dans les conditions d'un anémique qui ne trouve plus dans sa nourriture ordinaire une quantité suffisante de fer. »

Nous touchons maintenant au but ; il ne nous reste plus qu'à dire quel est le mode d'action intime des ferments, en d'autres termes de chercher si, dans la fermentation, l'alcool et l'acide carbonique sont des produits d'excrétion du ferment qui absorberait tout le sucre, s'en assimilerait pour un temps les éléments, puis rejetterait l'alcool devenu un produit de dénutrition, un élément de déchet ; c'est là une première théorie qui nous paraît d'ailleurs la seule vraie, et qui est admise par M. Pasteur. Il en est une autre, imaginée d'abord par Cl. Bernard, défendue ensuite par M. Berthelot, suivant laquelle le ferment agirait en sécrétant un principe soluble lequel, par

son contact, produirait le dédoublement du sucre : c'est ainsi, par exemple, que, dans la fermentation ammoniacale de l'urée, le *micrococcus ureæ* sécrète un ferment soluble qui hydrate l'urée ; mais dans toutes ces fermentations par les diastases ; le mode d'action est toujours le même. Il consiste essentiellement dans un phénomène d'hydratation, et cette action des diastases ne constitue, le plus souvent, qu'une étape du phénomène; elle prépare les substances fermentescibles de façon à les rendre assimilables par le ferment organisé; enfin la transformation du sucre en alcool et acide carbonique ne constitue en rien une hydratation ; et d'ailleurs, malgré ses essais répétés, M. Cochin n'est jamais parvenu à retrouver le ferment soluble de Cl. Bernard.

§ 12. — *Fabrication des boissons fermentées, bière, vin.*

1. Bière.

Dans ce chapitre essentiellement pratique, nous allons appliquer les notions que nous venons d'acquérir par l'étude théorique et expérimentale de la fermentation alcoolique, à la fabrication des deux boissons fermentées, le vin et la bière. Ce n'est pas une étude didactique et détaillée de cette fabrication que nous avons en vue; nous voulons simplement résumer les diverses opérations qu'elle comporte, en insistant surtout sur les raisons d'être des pratiques que l'expérience a consacrées.

Les opérations que comporte la fabrication de la bière sont les suivantes : *maltage de l'orge, touraillage du malt, confection et cuisson du moût* ou *brassage, refroidissement et aération du moût, fermentation* et *soutirage*.

1. Maltage. — Le grain d'orge mûr contient na-

turellement un peu de diastase capable de saccharifier l'amidon (amylase) ; mais ce ferment soluble s'y développe en plus grande quantité pendant la germination. Le maltage a pour but de produire cette amylase.

Le grain d'orge, humecté d'eau par une trempe de deux ou trois jours dans des cuves pleines d'eau, est égoutté rapidement, puis étendu en couches de 15 à 20 centimètres sur le sol des caves à germination dont la température reste au voisinage de 15° ; pendant la germination, on remue fréquemment le grain à la pelle pour répartir uniformément l'air, la lumière, la chaleur, et favoriser le développement de l'acide carbonique. La gemmule se développe sous les enveloppes du grain qui la protègent du choc provenant du pelletage; quand elle s'est accrue jusqu'au tiers de la longueur du grain, il ne s'est produit qu'une petite quantité de diastase qui laissera une grande quantité de dextrine non saccharifiée, de sorte que la bière sera peu alcoolique, mais riche en extrait et plus douce à la bouche (bières allemandes); si la gemmule acquiert plus de croissance, la diastase est en grande quantité, la dextrine est saccharifiée plus complètement, et la bière est sèche à la bouche, plus alcoolique et contient moins d'extrait (bières anglaises).

On interrompt la germination qui, prolongée, ferait disparaître l'amylase, en désséchant le grain dans l'opération du touraillage.

2. Touraillage. — La dessication doit être d'abord très lente, pour ne pas transformer en empois la couche périphérique du grain, puis plus active, lorsque la diastase desséchée n'a plus à craindre l'action de la chaleur; on étend le grain, au sortir des germoirs, sur des treillages métalliques qui forment les planchers de chambres superposées et chauffées par le bas par les produits de combustion d'un fourneau qui ne doit pas donner de fumée; des prises d'air extérieures servent à régulariser la température

qui ne dépasse pas en général 50°; la dessication est activée encore par un pelletage fréquent pratiqué soit à la main, soit au moyen d'appareils mécaniques qui épargnent aux ouvriers la fatigue extrême résultant du pelletage à la main pratiqué à cette température de 50°. L'opération dure en moyenne six heures, au bout desquelles certains malteurs donnent un fort coup de feu pour torréfier et caraméliser la couche externe du grain et donner ainsi à la bière une couleur plus foncée jointe à une saveur spéciale. (bières brunes de Munich).

L'orge est ensuite débarrassée de ses germes par un passage au tarare, puis réduite en farine grossière au moyen de meules ou de cylindres. 100 parties d'orge sèche donnent finalement 75 parties de malt environ.

3. *Brassage.* — Cette opération a pour but de transformer l'amidon du malt en éléments solubles dans l'eau et en partie fermentescibles, sous l'influence de la diastase. Elle se fait dans une vaste cuve, dite cuve-matière, partagée en deux compartiments par un faux fond à claire-voie sur lequel on étend le malt et qui sert de filtre ; on emploie soit la méthode par décoction, soit la méthode par infusion.

1° *Méthode par décoction.* — Cette méthode, employée exclusivement en Allemagne et en Autriche, est adoptée aujourd'hui par la plupart des grandes brasseries françaises. Le malt est mélangé avec de l'eau froide, dans la proportion de 20 à 25 kilogrammes environ par hectolitre de moût ; le brassage s'opère au moyen d'un système d'ailettes qui se meut horizontalement dans la cuve matière et maintient constamment le malt en suspension ; on fait ensuite arriver de l'eau bouillante de façon à obtenir 30° environ dans la cuve ; on brasse énergiquement, puis on soutire, après 1/4 d'heure de repos, une partie du liquide que l'on fait bouillir pendant trois quarts d'heure ; on reverse dans la cuve, ce qui porte la

température à 40 ou 45°, on brasse de nouveau, on soutire encore et on répète les opérations qui donnent ainsi quatre trempes successives à 30°, 40°, 60° et enfin 72° — 74° ; la dernière trempe à 72° est abandonnée une heure, pour parachever la saccharification; on soutire enfin une tisane claire que l'on fait encore bouillir comme nous le verrons tout à l'heure.

2° *Méthode par infusion.* — Cette méthode, exclusivement usitée en Angleterre et autrefois en France, n'est plus guère employée dans notre pays que par les petits brasseurs. Le malt est mélangé directement et rapidement avec de l'eau à 75°, de façon que le mélange descende à 56 ou 57° dans la cuve matière ; après un contact suffisant on soutire tout le liquide, puis on fait une deuxième trempe avec de nouvelle eau chaude; on réunit les deux liquides qu'on porte ensuite rapidement à 75°.

La température des deux trempes varie suivant la nature de la bière que l'on veut obtenir, ainsi qu'il résulte des recherches de M. O'Sullivan. A 63° ou un peu au-dessous, l'amidon se dédouble en un mélange formé d'environ deux de maltose pour un de dextrine. Entre 64, 68 et 70°, la proportion est intervertie ; il se forme un de maltose pour deux de dextrine ; enfin entre 68 et 70°, c'est-à-dire au voisinage immédiat de la température à laquelle la diastase de l'orge germée est détruite par la chaleur, il ne se forme plus que un de maltose pour cinq de dextrine. Et comme la maltose seule est susceptible de fermenter alcooliquement, la dextrine restant dans le produit de la fermentation auquel elle communique sa saveur spéciale, on comprend que, suivant le degré alcoolique qu'on veut obtenir, et la saveur plus ou moins sèche ou sucrée de la bière qu'on veut fabriquer, on brasse à l'une ou à l'autre des températures que nous venons d'indiquer. Dans tous les cas on termine l'opération en élevant rapi-

dement la température à 75°, pour arrêter l'action ultérieure de la diastase.

Le résultat final du brassage est, d'une part, le moût sur la composition duquel nous allons revenir, et d'autre part un résidu solide, formé de cellulose, de matières albuminoïdes et de petites quantités d'amidon et de sucre non enlevées par la deuxième trempe, qui constitue la *drèche*, et sert dans l'agriculture à la nourriture du bétail.

Nous donnons ci-dessous la composition d'un moût de *pale ale*, de densité 1,063, laissant 16. 5 d'extrait sec par litre (O'Sullivan) :

Maltose...	6,66
Dextrine...	3,44
Autres hydrates de carbone fermentiscibles.....	3,30
— — non fermentescibles.	1,48
Matières albuminoïdes...	1,47
Cendres, phosphates, sulfates...	0,17
	16,50

3. *Cuisson du moût.* — Une fois le moût soutiré, on le porte à une température suffisamment élevée (75-78°) pour détruire la diastase et maintenir constante la composition du liquide ; c'est pendant cette cuisson finale qu'on introduit le houblon qui donne au moût une saveur qu'on retrouve dans la bière, et qui, par son huile essentielle, contribue à préserver la bière des fermentations anormales. En outre, le tannin du houblon, se combinant avec les matières albuminoïdes, ajoute son action à celle de la chaleur pour déterminer une congélation partielle des albumines du moût, laquelle produit un véritable collage du liquide, et le clarifie.

4. *Refroidissement et aération du moût.* — A sa sortie de la chaudière de cuisson, le moût doit être refroidi pour être amené à la température de la fermentation : on le refoule dans des bacs en étain à très grande surface, mais de peu de profondeur, où il se refroidit par évaporation spontanée à l'air ; on ter-

mine et accélère le refroidissement en faisant ensuite passer le moût encore chaud dans des réfrigérateurs de construction variable. Le séjour dans les bacs rafraîchisseurs est en moyenne de six à sept heures, pendant lesquelles le liquide absorbe l'oxygène de l'air.

Cette absorption momentanée d'oxygène joue un rôle multiple : une partie de l'oxygène sert à l'oxydation ultérieure de certain éléments du moût et favorise l'agrégation et le dépôt de fines particules organiques qui se mettent en suspension dans le liquide même le mieux filtré, pendant son refroidissement ; en même temps la coloration se fonce beaucoup, et la saveur se modifie également ; il ne faut pas cependant que le moût s'oxyde trop, sans quoi il perd la saveur aromatique qu'il doit au houblon, et son amertume.

L'autre partie de l'oxygène sert, au moment où on introduit de la levûre dans le moût pour le faire fermenter, à favoriser le développement rapide du ferment, et à lui faire prendre immédiatement possession du liquide de façon que la transformation du sucre en alcool soit très avancée avant que les ferments étrangers ou de faux ferments n'essaient de s'implanter dans le liquide.

5. *Fermentation du moût.* — Le moût refroidi et aéré est introduit dans les cuves à fermentation et ensemencé, suivant les indications de M. Pasteur, avec des levûres jeunes et fortement aérées provenant d'une fabrication semblable à celle que l'on veut obtenir. L'expérience a démontré, en effet, qu'une levûre provenant d'une bière peu alcoolique ne peut produire des bières fortes, et inversement. Cependant la levûre d'une brasserie, après avoir donné une série de brassins de bonne qualité, finit par perdre peu à peu son activité : elle doit alors être remplacée par de la levûre jeune et pure, que l'on fabrique aujourd'hui couramment d'après un procédé dû à M. Pasteur.

Nous avons déjà dit que la fermentation de la bière s'effectue, suivant les procédés et les pays, sous l'influence de deux levûres différentes, haute ou basse; nous allons donc maintenant nous occuper des fermentations que provoquent ces deux levûres.

Nous parlerons cependant au préalable d'un fait commun aux deux genres de fermentation : c'est la diminution progressise de densité, *l'atténuation* du liquide en fermentation résultant de la transformation de sa maltose en alcool, laquelle, mesurée avec un densimètre, permet de se rendre compte du degré d'avancement plus ou moins complet de la réaction chimique. Aussi un moût de *pale ale* de densité 1.063 donne un produit de densité 1.029, soit 34 degrés d'atténuation.

6. Fermentation haute. — Dans ce procédé, usité surtout en Angleterre et qui donne des bières pâles et très alcooliques, le moût contenu dans des cuves très volumineuses est mis en levain à une température comprise entre 13°,5 et 15°,5 ; sous l'influence de la fermentation, la température monte progressivement jusqu'à 21 degrés : on soutire alors la bière dans de petits tonneaux dont la bonde communique, par un tube en col de cygne, avec un petit auget dans lequel se déverse la levûre mise en suspension par la fermentation réveillée par le soutirage ; quand le liquide est éclairci, on le fait passer dans un bac reposoir où les dernières cellules de levûre se déposent, puis enfin dans les barils d'expédition ; toutes ces opérations doivent être conduites à l'abri de l'air, pour éviter les faux ferments ; le séjour dans le bac de repos est de 24 heures quand la bière doit être consommée de suite ; il est plus long, et la bière en doit sortir absolument limpide, quand elle doit être conservée en magasin ou en bouteilles.

La levûre, réunie dans le petit auget, est séparée du liquide et envoyée à la presse, puis livrée au commerce.

7. *Fermentation basse.* — La fermentation basse est pratiquée généralement en Allemagne, et dans les grandes brasseries de l'est de la France. Elle s'opère à une température très basse et, par suite, défavorable au développement des faux ferments, mais aussi dure-t-elle longtemps, quelquefois des mois entiers; on obtient ainsi une bière peu alcoolique, par suite moins résistante aux voyages et à la vieillesse, et qui doit toujours être maintenue à basse température et par suite expédiée dans des vagons-glacière. En revanche, cette bière a une finesse de goût que ne possèdent jamais les bières anglaises.

Le moût est distribué dans des cuves de 20 à 50 hectolitres, placées dans des caves glacières dont la température reste voisine de 0°; suivant qu'on veut obtenir des bières de garde ou de consommation immédiate, on ensemence avec de la levûre basse à 4 ou 5° ou à 8-9°; au bout de 12 heures environ, apparaissent à la surface les premières bulles d'acide carbonique suivies, après 24 ou 36 heures, d'un peu d'écume moutonnée; on introduit alors, dans chaque cuve, un nageur en cuivre étamé et rempli de glace, qui maintient la température au degré voulu, puis l'on enlève l'écume superficielle à mesure qu'elle se produit.

La fermentation principale est terminée en dix, douze, quinze ou vingt jours et même plus; on soutire la bière dans de grands foudres hermétiquement clos, placés dans des glacières, où elle achève sa fermentation à 2 ou 3°; on évite soigneusement l'accès de l'air qui ferait vinaigrer cette bière peu alcoolique avec la plus grande facilité. Lorsque le liquide est devenu clair, il est soutiré dans les tonnelets d'expédition qu'on accompagne de glace jusque chez le consommateur, pour lui conserver sa finesse et son bouquet.

8. *Autres modes de fermentation.* — Dans la fabrication des bières belges l'*uytzet*, le *lambick* et le

faro, la fermentation du moût se fait sans autre ensemencement que celui qui résulte de la levûre restée dans les encoignures des cuves mal nettoyées; les ferments lactique et acétique se développent à côté de la levûre alcoolique et donnent un liquide parfumé, mais à saveur aigre très prononcée.

Enfin, dans le cours de ses études sur la bière, M. Pasteur a été conduit, pendant son séjour à Tantonville, à instituer un procédé nouveau de fermentation complètement à l'abri de l'air, lequel, d'ailleurs, n'a pas pris place dans la pratique de la brasserie, peut-être moins à cause des difficultés qu'elle présente dans la construction et le mode d'emploi de son outillage spécial, que par suite de la routine qui, encore aujourd'hui, régit souverainement les brasseurs, routine d'ailleurs justifiée jusqu'à un certain point par les bons résultats qu'elle donne.

On sait que la bière mise en bouteilles travaille souvent et peut faire éclater les bouteilles couchées. Il s'y produit alors, sous l'influence de la température trop élevée des caves des particuliers, une fermentation secondaire aux dépens des petites quantités de sucre restées dans le liquide, surtout dans les bières de fermentation basse que nous avons vu fermenter si lentement; aussi, vaut-il mieux conserver les bouteilles debout, de façon à permettre à l'excès du gaz carbonique de s'échapper par les pores du bouchon; dans ces conditions, il se forme toujours au fond de la fiole un léger dépôt floconneux blanc constitué par des grains de levûre qui se sont développés en partant des quelques globules qui étaient restés dans la bière même claire. C'est pour éviter cette fermentation secondaire que certaines brasseries vendent leur bière de conserve filtrée dans des appareils spéciaux qui retiennent les derniers grains de levûre.

9. *Caractéristique des diverses bières.* — On a vu

que, suivant la méthode de brassage employée, la proportion de maltose fermentescible et de dextrine varie du tout au tout (p. 129), de sorte qu'on peut dire que si l'on emploie une même quantité de malt, par hectolitre de moût, les quantités d'alcool et de dextrine ou d'extrait sont en raison inverse, dans les diverses bières. Ce rapport de l'alcool à l'extrait résume donc mieux que tout autre ce qui est relatif au travail du brassage ; c'est ce qui a conduit M. Duclaux à le proposer comme la caractéristique la plus exacte des diverses sortes de bières.

Voici quelques-unes de ces caractéristiques déduites des chiffres de M. A. Girard

		Alcool p. 100.	Alcool. Extrait.
		—	—
Bières anglaises :	Pale ale.......	6,50	1,26
	Sparkling ale..	7,25	0,96
	Extra stout....	9,00	1,06
Bières belges :	Lambick de Bruxelles.....	5,80	1,60
	Faro..........	4,90	1,30
Bières autrichiennes :	Lager bier....	4,00	0,57
	Export bier....	4,50	0,57
Bières bavaroises :	Nuremberg....	4,60	0,68
	Munich.......	4,30	0,65

Les données suivantes sont relatives à quelques bières de la région du nord-est de la France. (Garnier) :

Tantonville (1877)......	5,49	1,06
— (1887)................	5,50	0,75
Brasserie de l'Est à Maxéville près Nancy (1887)....................	5,30	0,57
Bière légère de Nancy (1877).......	2,86	0,54

2. Vin.

Les opérations que comporte la fabrication du vin sont les suivantes : *Préparation du moût de raisin,*

fermentation, décuvaison et entonnage, soutirage et conservation en tonneaux, puis *en bouteilles.*

1. *Préparation du moût de raisin.* — Le raisin destiné à la fabrication du vin blanc, qu'il soit lui-même blanc ou rouge, est écrasé aussitôt la cueillette faite, puis passé au pressoir. Le jus est mis en cuve ou en tonneau pour la fermentation. Ordinairement ce jus est incolore, sauf dans les années de grande maturité où il est plus ou moins rosé, quand il provient de raisins rouges.

Pour la fabrication des vins rouges, on met en fermentation le raisin tout entier soumis ou non à un foulage pratiqué avec le pied ou au moyen de cylindres broyeurs spéciaux ; quelquefois on enlève la grappe en entier (Médoc) ou partiellement (Jura).

Pendant ces manipulations préalables, l'air se dissout dans le jus de raisin et, par son action stimulante sur la vitalité des germes de levûre de la pellicule de raisin et du bois de la grappe, détermine une fermentation très active dans toute la masse du liquide. Cette influence de l'aération sur l'activité de la fermentation est bien connue des vignerons ; il suffit en effet d'un soutirage, ou même d'un simple foulage au contact de l'air, pour ranimer une fermentation devenue languissante ; c'est d'ailleurs par des soutirages répétés qu'on finit par faire disparaître complètement le sucre et la saveur encore sucrée que quelques vins ont conservés après la décuvaison.

Mais l'oxygène joue encore un rôle chimique important à l'égard du moût ; il se combine rapidement avec certains éléments oxydables, d'où résulte une modification de la couleur : c'est ainsi que le moût de raisins blancs, d'abord incolore, devient jaune brun ; la matière incolore qui donne naissance à cette coloration, et qui existe également dans les raisins rouges, provient surtout de la grappe et des pépins (Nessler) ; de là nécessité de séparer la rafle du moût, dans la fabrication du vin blanc. Malgré

cette précaution, le vin brunit un peu, pendant la fermentation, mais il abandonne plus tard la matière colorante sous forme d'un précipité qui est entraîné avec les lies.

2. *Fermentation.* — La fermentation du moût de raisin s'établit plus ou moins vite, suivant la température du raisin et celle de l'air ambiant. L'expérience démontre qu'en général, pour obtenir une fermentation rapide et complète donnant un produit plus coloré, plus riche en principes extraits de la grappe et prêt à être mis en vente plus tôt, il y a avantage à élever la température du moût en réchauffant au besoin la vendange. Une fois commencée, la fermentation s'active, la température s'élève, surtout quand on opère sur de grandes masses ; mais il faut éviter de dépasser 35 degrés, sans quoi l'on perd le parfum du produit ; les vins de grands crûs de Bordeaux, Bourgogne et du Rhin doivent autant que possible avoir fermenté aux environs de 15° seulement.

Il se dégage des quantités considérables d'acide carbonique qui font bouillir le liquide, entraînent à la surface la masse des grappes et des enveloppes du raisin, et forment un *chapeau* exposé à l'acescence, par suite du contact de l'air. Aussi le brise-t-on, de temps en temps, pour le noyer dans le liquide et assurer ainsi un meilleur contact entre le jus et la pulpe colorée ; dans cette opération, on doit éviter d'entrer dans les cuves pleines d'acide carbonique, ou les aérer au préalable, par l'agitation énergique d'un drap à l'ouverture. Malgré ces recommandations, des imprudences se produisent encore tous les ans, trop souvent suivies d'accidents mortels. On a proposé, pour éviter la difficulté de ce foulage et assurer le contact intime du liquide avec les grappes, de maintenir celles-ci constamment immergées au moyen d'un couvercle à claire-voie que l'on enfonce un peu au-dessous de la surface du liquide.

Le dégagement abondant de gaz ne dure d'ordinaire que quelques jours, et, quand la fermentation est à peu près complètement terminée, le chapeau s'affaisse et la température n'est plus que de quelques degrés au-dessus de celle de l'atmosphère ambiante; en soutirant un peu de liquide, on n'y observe plus de dégagement gazeux; et la densité qui, dans le moût d'un vin ordinaire, était d'environ 1,100 est descendu à 1,000 ou 1,002, par suite de la transformation du sucre en alcool; il se produit, par compensation, un équilibre entre l'augmentation de densité due aux principes solides en solution dans le vin et la diminution corrélative provenant de la production d'alcool.

3. *Décuvaison et entonnage*. — Une fois la fermentation principale terminée, le vin trouble est soutiré et abandonné au repos dans des tonneaux placés dans une cave fraîche et à température constante; c'est le vin de *goutte*. Le marc est exprimé et donne du *vin de pressoir*, plus âpre, plus tannique, que l'on conserve à part, ou qu'on mélange au vin de goutte.

Le produit ainsi obtenu a subi le contact de l'air qui réveille l'activité des globules de levûre entraînés, et provoque une fermentation secondaire qui est très courte, mais hâte la disparition du sucre qui a échappé à la fermentation tumultueuse. Par le repos, les éléments en suspension se tassent peu à peu, et forment les lies qui entraînent avec eux un peu de matière colorante; on les sépare du liquide par un second soutirage pratiqué à l'entrée de l'hiver, et l'on met le vin dans les fûts destinés à le conserver.

Aux premières chaleurs du printemps, au moment de l'ascension de la sève dans les arbres, l'acide carbonique dont le vin est saturé, à l'exclusion de tout autre gaz, se dégage et tend à mettre en suspension le dépôt qui s'est formé pendant l'hiver et qui renferme des ferments, globules de levûre entraînés par

le second soutirage, et souvent ferments étrangers; aussi doit-on soumettre les vins conservés en cercles, à un soutirage annuel pratiqué à la fin de l'hiver, pour éviter le développement de ces germes qui ne pourraient que compromettre la qualité du liquide.

Une partie du vin conservé en tonneaux se perd par évaporation à travers les douves; elle est remplacée par un volume égal d'air extérieur, sous l'influence duquel des phénomènes d'oxydation se produisent, qui amènent la tranformation en vin vieux. C'est ce qui explique pourquoi cette transformation est plus rapide quand le vin est en fût, que quand il est en bouteilles. Il se développe alors généralement, à la surface du liquide, un voile blanc constitué par le mycorderma vini qui brûle, aux dépens de l'oxygène, une minime partie du sucre, des matières extractives et de l'alcool du vin; mais cette combustion, qui exige un volume considérable d'oxygène, est très lente et même insensible si on ne renouvelle pas le contact de l'air en ouvrant la bonde; aussi la production de ce mycoderme est-elle beaucoup moins redoutable que celle du mycoderma aceti, qui donne rapidement au vin une saveur très nette de vinaigre, surtout avec les vins peu acides, tels que les vins de Bourgogne.

Pour éviter le développement de ces ferments aérobies, on a la coutume, en Bourgogne et dans d'autres pays, de recourir au remplissage complet du fût au moyen d'une nouvelle quantité de vin, ce que l'on désigne sous le nom de *ouillage;* à défaut de vin de même qualité, on peut maintenir le fût plein par l'introduction de gros cailloux de rivière bien lavés et bien secs.

Que le vin clair soit soutiré dans des tonneaux propres, ou mis en bouteilles, toujours il se dépouille peu à peu d'une certaine quantité de crème de tartre qui entraîne avec elle une partie de la matière colorante, et forme, sur les parois inférieures, ces dépôts

rouges plus ou moins foncés et cristallisés, qui constituent ce que l'on appelle le *tartre brut*.

Dans les pays d'origine des grands vins de France, en Bourgogne notamment, on a généralement l'habitude d'expédier les vins sur colle, c'est-à-dire qu'on mélange au vin dans le fût d'expédition, une certaine quantité d'albumine. Le mouvement du voyage détermine un mélange intime ; et après une quinzaine de jours de repos, le coagulum d'albumine formé aux dépens de certains éléments acides du vin, et en particulier du tannin, s'est tassé, entraînant avec lui toutes les particules solides qui étaient en suspension ; le vin, devenu clair et brillant, est bon à mettre en bouteilles. Les bouteilles doivent être autant que possible cachetées, et en tous cas couchées pour empêcher l'air de rentrer à travers le bouchon.

Comme on peut s'en douter après ce que nous venons de dire, le collage des vins présente certains inconvénients ; il entraîne la majeure partie du tannin, et dépouille le liquide d'un peu de matière colorante ; aussi croyons-nous qu'il est préférable de laisser reposer le vin suffisamment, sans le coller, et de le mettre en bouteille avant les premières chaleurs du printemps.

3. Fabrication de levure et d'alcool de grain.

La fabrication des levûres et celle des alcools de grain, d'origine beaucoup plus récente que celle des boissons fermentées, vin et bière, est basée immédiatement sur les résultats des travaux de M. Pasteur.

Nous avons vu les deux manières d'être, si différentes l'une de l'autre, de la levûre de bière, suivant qu'elle respire librement au contact de l'air ou qu'elle est soustraite plus ou moins complètement à l'action de l'oxygène ; dans le premier cas, la prolifération atteint son maximum, mais il ne se forme

que peu d'alcool, tandis qu'à l'abri de l'air, le développement des ferments est minime et le rendement d'alcool le plus fort. Et alcool autant que levûre ont leur valeur commerciale, et l'on pourrait être tenté de chercher un moyen terme donnant à la fois les deux ; mais nous venons de dire que, pratiquement, les deux fabrications sont exclusives l'une de l'autre, et que l'industriel doit choisir, et devenir ou fabricant de levûre, l'alcool étant un produit accesoire, on fabricant d'alcool, la levûre passant en seconde ligne.

Suivant que l'on voudra obtenir de préférence ou de la levûre ou de l'alcool, on devra faire les cultures ou dans des cuvettes plates ou autres appareils tels que tonneaux tournant autour de leur axe, pour assurer le contact de la levûre, du sucre et de l'air, ou, au contraire, dans des vases à fermentation profonds, dans lesquels le liquide restera protégé d'un contact trop intime avec l'air par la couche d'acide carbonique superficielle.

Ceci étant établi, voyons comment on pratique la transformation de l'amidon des céréales en alcool ; le procédé que nous allons exposer maintenant est celui de M. Schubert, destiné surtout à la fabrication de levûre; il comprend des opérations analogues à celles de la fabrication de la bière, savoir : maltage, saccharification, refroidissement, fermentation, extraction de la levûre et de l'alcool.

1. *Maltage et saccharification.* — Le malt contient une quantité de diastase beaucoup plus considérable que celle qui est nécessaire à la saccharification de l'amidon qu'il renferme. On fait un mélange de 1 de malt pour 3 d'une graine de céréale réduite en farine et simplement blutée, telle que seigle, orge, maïs. On délaye rapidement 600 kilogr. du mélange dans 1.070 litres d'eau à 70°, et on abandonne pendant 20 à 30 minutes ; on ajoute alors 9 hectolitres d'eau à 80-90°, et l'on brasse énergiquement, de façon à obtenir une masse homogène à 63-66°, tempéra-

ture à laquelle l'amidon donne le maximum de sucre et le minimum de dextrine; on abandonne pendant 3 heures dans la cuve-matière, en agitant toutes les demi-heures, puis l'on soutire et l'on abandonne le liquide laiteux pendant 3 ou 4 heures, sur les bacs-rafraîchissoirs, jusqu'à ce que la température soit abaissée à 40°-48°. Pendant ce séjour prolongé sur les bacs, il se produit une fermentation lactique qui donne un moût acide dans lequel la fructification de la levûre est plus active.

2. *Fermentation.* — On met ensuite en levain, avec 1 kilogr. de levûre pour 100 kilogr. de moût refroidi. La levûre est ajoutée, délayée dans du moût; la fermentation se développe très activement, et l'on commence déjà la récolte de levûre dix à douze heures après l'ensemencement, lorsque les bulles gazeuses, d'abord transparentes, sont devenues laiteuses par suite des nombreux globules de levûre en suspension dans le liquide; on enlève la mousse qui se forme, avec une écumoire, jusqu'à ce qu'il ne monte plus de levûre à la surface.

La levûre est alors lavée par décantation à l'eau froide, versée dans une poche en toile où elle s'égoutte, puis soumise à la presse ou à l'essoreuse. On obtient ainsi une pâte homogène, grisâtre, plastique, ne collant pas aux doigts, se délayant facilement dans l'eau et d'une odeur aromatique spéciale, non désagréable.

Abandonnée à elle-même, à l'air, elle s'altère rapidement, surtout par les chaleurs, se transforme en une masse brune, gluante et d'odeur acide et un peu putride.

Le liquide fermenté est envoyé à la distillerie où, au moyen d'appareils rectificateurs, on en extrait du premier jet de l'alcool bon goût à 90-95°:

Le procédé que nous venons de décrire donne de la levûre haute dont la vente se fait aux brasseurs qui emploient la fermentation haute, aux distilleries

de mélasses ou de glucoses, enfin aux boulangers et aux pâtissiers.

La levûre infère nécessaire pour la fabrication des bières d'Allemagne provient toujours d'une fermentation antérieure, dans les brasseries où l'on pratique la fermentation basse.

Les chiffres suivants, que nous empruntons à M. Duclaux, donneront une idée de l'importance de cette fabrication :

En 1877, le mouvement journalier de la fabrique de levûre de Maisons-Alfort était de :

		Rapport.
Céréales (orge, seigle, maïs) mises en œuvre	25,000 kil.	100 kil.
Alcool rectifié produit...........	7,000 lit.	28 lit.
Levûre fraîche pressée...........	2,250 kil.	9 kil.
Viande produite par l'alimentation avec les drêches....	1,700 kil.	7 kil.

La levûre de bière développe, dans les alcools de grains, une odeur spéciale de *trois-six* que ne possède pas l'alcool de vin, et qui permet aux gourmets de les distinguer l'un de l'autre. Il résulte des recherches de M. Ordonneau, que cette odeur est due à la présence de l'alcool *isobutylique*, que les rectifications ne retiennent pas. Il y a, dans ce fait, un grave inconvénient pour l'emploi de ces alcools dans la confection des eaux-de-vie et liqueurs artificielles, et pour le vinaigre du vin. Mais M. Ordonneau a remarqué que la levûre elliptique (saccharomyces ellipsoïdes) donne de l'alcool *butylique normal*, et par suite des alcools bon goût, sans odeur de trois-six ; c'est précisément cet alcool butylique normal qui se produit en plus grande quantité dans le vin, après l'alcool éthylique, ainsi qu'il ressort du tableau suivant. L'auteur a donc proposé de rechercher si, dans la fabrication des alcools d'industrie, on ne pourrait substituer la levûre elliptique aux levûres de bière généralement employées.

La distillation fractionnée lui a permis de retirer, d'un hectolitre d'eau-de-vie de Cognac, en dehors de l'eau, et de l'alcool éthylique qui prédomine, les produits suivants qui, par leur ensemble, donnent à l'eau-de-vie sa saveur et son bouquet spécial :

Aldéhyde acétique	3gr0
Éther acétique	35 0
Acétal	»
Alcool propylique normal	40 0
Alcool butylique normal	218 6
Alcool amylique	83 8
Alcool heptilique	1 5
Éthers propionique, butyrique, caproïque, etc..	3 0
Éther œnanthique environ.	4 0
Bases, amines	» »

Outre la bière, le vin, le cidre et le poiré, qui sont consommés surtout en Europe, il existe d'autres boissons fermentées dont l'usage, peu ou point répandu chez nous, est restreint à certaines populations étrangères.

Tels sont le *saké* du Japon, fabriqué avec le koji ; la *chicha* des Indiens de l'Amérique du Sud ; enfin, le *koumys* des Tartares.

4. Saké.

Le *saké* se fabrique avec le *koji*, qui n'est autre que du riz cuit, dont l'amidon a été transformé par une diastase sécrétée par une mucédinée, l'*eurotinus orizeæ* (Ahlburg), d'abord en maltose, puis en glucose ; l'opération se fait, après un ensemencement de mucédinée sur le riz cuit à la vapeur, dans des caves ou celliers voûtés, humides et bien ventilés. A la température de 27°, il se produit une combustion partielle de la matière amylacée, de telle sorte que le riz perd, dans cette opération, 11 parties environ de sa matière sèche, qui servent à la nutrition de la mucédinée. Le koji obtenu contient plusieurs

diastases : d'abord de la sucrase, ferment inversif du sucre cristallisé, puis une diastase amylacée qui agit sur l'amidon, comme l'amylase, et le transforme d'abord en dextrine et maltose, mais en diffère parce qu'elle peut hydrater intégralement la maltose, et la faire passer à l'état de glucose.

Les tableaux suivants montrent les modifications que subit le riz, dans sa constitution immédiate :

Composition du riz dépouillé et séché à 100°.

Amidon, sucre et dextrine....	83,20
Corps gras..................	1,21
Matières albuminoïdes........	8,10
Cellulose....................	6,58
Cendres......................	0,91
	100,00

Ce riz n'abandonne, à l'eau froide ou chaude, que 1 à 2 pour cent de matériaux hydrocarbonés formés de sucre et de dextrine, et le quart environ des matières albuminoïdes.

Le koji desséché à 100° renferme :

Mat. solubles dans l'eau : 37.76 °/° formées de :	Dextrose..........	25,02
	Dextrine...........	3,88
	Mat. albuminoïdes..	8,34
	Cendres solubles...	0,52
Mat. insolubles dans l'eau : 62,24 °/° formées de :	Mat. albuminoïdes.	1,50
	Cendres insolubles.	0,09
	Corps gras........	0,45
	Cellulose..........	4,20
	Amidon............	56,00
		100,00

Cette fois, une portion notable de l'amidon s'est transformée en dextrine et glucose; mais, de plus, une forte proportion des matières albuminoïdes primitivement insolubles, est devenue soluble dans l'eau.

Le koji, épuisé par l'eau à 45-60°, cède à ce véhicule plus de 60 pour 100 de principes solubles : l'extrait obtenu intervertit rapidement la saccharose

et agit sur l'amidon cuit et non crû, ainsi qu'on l'a vu précédemment, et donne, à 35°, 87 pour 100 de glucose contre 13 pour 100 de dextrine ; l'action de la diastase amylacée s'affaiblit vers 60°, et devient nulle au-dessus de 70°.

Le koji sert à faire la bière de riz nommée *saké*, au moyen d'un véritable brassage. On mélange 21 parties de koji avec 68 de riz cuit à la vapeur et 72 d'eau, à la température ordinaire. La masse, d'abord épaisse, se liquéfie peu à peu et devient sucrée ; on la réchauffe un peu dans un vase où elle entre en fermentation spontanée. Au bout de quelques jours, le liquide contient jusqu'à 10 pour 100 d'alcool.

Ce premier produit, qui renferme certainement des globules de levûre en abondance, peut servir, à son tour, de levain pour mettre en fermentation un nouveau mélange de riz étuvé, de koji et d'eau ; et comme la levûre transforme le sucre au fur et à mesure de sa formation, l'épuisement en amidon est poussé beaucoup plus loin, l'action de la diastase ne se trouvant pas entravée par les produits d'hydratation auxquels elle donne naissance. Aussi ne reste-t-il dans le liquide complètement fermenté que le huitième ou le dixième de l'amidon originel. Il y a peu de dextrine, parce qu'on opère à froid, et le titre alcoolique atteint parfois 14 degrés. Le produit final se rapproche donc plus du vin que de la bière.

Chicha. — La chicha est une boisson vineuse, très alcoolique, préparée par les Indiens de l'Amérique du Sud, par la fermentation du maïs.

Le maïs, ramolli par une trempe de quatre à six heures dans l'eau, est broyé, et la pâte, d'abord bouillie, est abandonnée à la fermentation spontanée ; sous l'action des diastases provenant de ferments encore mal connus qui se développent dans la pâte, l'amidon gonflé et dilacéré par la chaleur donne de la dextrine et un sucre fermentescible ; la transfor-

mation de ce sucre non déterminé en alcool paraît provoquée par un vibrion différent des levûres alcooliques ordinaires; en effet, il peut faire fermenter la mannite, la dulcite et le sucre de lait.

Ensemencé, par exemple, dans du lait additionné de lactose en quantité proportionnelle au degré alcoolique que l'on veut atteindre, il y provoque rapidement une fermentation tumultueuse. Au bout de huit à dix jours, on obtient un liquide alcoolique à peine acide, d'un goût et d'une saveur agréables; or, les levûres ordinaires ne produiraient rien de semblable.

5. Koumys.

Le koumys est une boisson légèrement alcoolique et acide, que fabriquent les populations nomades des steppes du sud de la Russie et de l'Asie centrale, au moyen du lait de jument. Les procédés varient d'une peuplade à l'autre, mais peuvent être ramenés, d'après Sudakewitsch, au suivant : on mélange, dans un vase, du lait avec du vieux koumys, ou avec un dépôt de koumys desséché au soleil; on agite bien pendant quinze minutes, et on laisse reposer une nuit. Le lendemain, on ajoute du lait frais et on agite fréquemment dans la journée, à la fin de laquelle on obtient un koumys faible, qu'on décante dans un second vase, en en laissant un peu dans le premier. A ce résidu on ajoute de nouveau lait, on agite, on laisse reposer une nuit, on ajoute encore du lait, et on remue fréquemment dans la journée : on agite aussi le koumys décanté, sans y ajouter de lait. A la fin du troisième jour, on a dans le second vase un koumys de moyenne force, et, dans le premier, du koumys jeune. On décante dans un troisième vase la majeure partie du koumys du second, on verse sur le résidu le liquide du premier vase, et

dans celui-ci on recommence la suite des opérations, de sorte que, si la fabrication est poursuivie régulièrement, on a toujours trois koumys de force décroissante.

On peut remplacer le vieux koumys primitif par le produit que donne l'opération suivante : A 250 grammes de levûre on ajoute 125 grammes de farine de froment; on pétrit le tout avec une cuillerée à bouche de miel, on délaye dans une petite quantité de lait frais, et on abandonne une nuit dans un endroit chaud. On enveloppe ensuite la masse dans un linge, et on la place dans du lait frais. Après trois ou quatre jours, ce lait peut servir à la mise en train d'une préparation de koumys. (Jarotski.)

On reconnaît, dans la suite de ces opérations, une série d'ensemencements dont nous pourrons nous rendre compte, quand nous aurons comparé la composition du lait de jument et celle du koumys.

Composition du lait de jument (d'après M. Duclaux).

	Valeurs extrêmes.	Moyenne.
Corps gras	0,12-2,45	1,17
Mat. albuminoïdes	1,33-3,00	2,05
Lactose	4,20-7,26	5,66
Sels	0,28-1,20	0,44
Eau	89,05-92,53	90,68
		100,00

Ce lait est plus aqueux, beaucoup plus pauvre en corps gras et en matières albuminoïdes, mais un peu plus riche en lactose que le lait de vache.

Composition du koumys, (Biel, sur 6 échantillons).

	Valeurs extrêmes.
Alcool	1,23 — 2,00
Sucre	1,80 — 0,64
Acide lactique	0,47 — 0,80
Corps gras	1,18 — 1,12
Mat. albuminoïdes	2,22 — 1,82

Cendres........................	0,31 — 0,29
Eau........................	93,71 — 95,27
Acide carbonique libre ou combiné:........................	0,54 — 0,92

L'alcool et l'acide carbonique que renferme constamment le koumys, ne peuvent évidemment provenir que du sucre de lait qui subit cependant très difficilement la fermentation alcoolique; la proportion d'alcool est toujours assez faible, et la lactose n'a jamais disparu ; en outre, il s'est toujours formé un peu d'acide lactique dont la proportion moyenne, voisine de 1 pour 100, correspond à la même quantité de lactose; et comme il reste en moyenne 1,25 pour 100 de sucre de lait, il en a disparu 3,4 pour 100 qui correspondent à 1,7 pour 100 d'alcool fourni par une fermentation alcoolique régulière, tandis que la moyenne des analyses des échantillons de koumys donne 1,8 pour 100 d'alcool. Il en résulte que l'alcool et l'acide carbonique sont produits à peu près dans la même proportion que lorsque la levûre de bière agit sur le sucre.

Le koumys doit donc renfermer à la fois le ferment lactique et une levûre capable de faire fermenter la lactose; et, de fait, M. Cochin a trouvé dans le koumys du commerce, fabriqué il est vrai avec du lait de vache, des globules de levûre analogues à la levûre haute, et un ferment en bâtonnet qui est analogue au ferment lactique et rend acide le sucre de lait; il paraît en outre sécréter une diastase qui transforme ce sucre en un sucre assimilable par la levûre. La transformation du lait de jument en koumys s'expliquerait donc facilement de la manière suivante : la lactose, soumise à l'action du ferment en bâtonnet, se décomposerait, partie en acide lactique sous l'influence du ferment figuré, partie en sucre assimilable par la levûre sous l'influence d'une diastase sécrétée par ce même ferment; le sucre assimilable, qui est probablement le mélange de glucose et de galactose,

tous deux fermentiscibles, que donne la réaction des acides sur la lactose, subit à son tour l'action de la levûre et se transforme en alcool et acide carbonique.

Le koumys de M. Cochin se coagulait au bout de quelques heures, tandis que la coagulation ne se produit pas dans les koumys d'origine. Il est intéressant de chercher la raison de cette différence ; car il est impossible qu'un lait contenant les quantités d'acide lactique indiquées sur les analyses précédentes, ne se coagule pas. Dans la préparation du koumys, l'agitation fréquente du liquide, en même temps qu'elle l'aère, amène la division, en très fins grumeaux, du caseum qu'on retrouve sous forme d'un fin précipité dans les koumys de Tartarie ; mais en outre, le liquide tel qu'il est préparé doit contenir ces ferments de la caséine que nous aurons à étudier, et qui possèdent la propriété de transformer peu à peu la caséine en une variété d'albumine soluble qui n'est plus coagulée par les acides. Les expériences de Dochmann ont, en effet, démontré qu'au fur et à mesure que la fermentation du lait de jument s'avance, la proportion de caséine transformée par la caséase des microbes, en peptone et syntonine non coagulables, va en augmentant graduellement.

Il nous reste, pour achever ce qui a trait à la fermentation alcoolique, à dire un mot de la fermentation de la pâte de pain.

FERMENTATION PANAIRE

Pendant longtemps, on a cru que la fermentation de la pâte de pain était une fermentation alcoolique, en se basant sur ce que le boulanger peut faire lever sa pâte en y mélangeant de la levûre de bière. La dilatation de la pâte était attribuée au dégagement d'acide carbonique concomitant à la production d'alcool. Il est démontré aujourd'hui qu'il ne produit pas la

moindre trace d'alcool, ni dans le levain, ni dans le pain, et que la levûre ne se développe pas; le rôle de cette levûre est donc inconnu. En revanche, on trouve dans le pain des milliers de bâtonnets de nature diverse, analogues à ceux que l'on rencontre dans le levain de boulangerie non additionné de levûre, et qui n'est que de la pâte abandonnée à elle-même: les germes de ces bactéries, auxquelles il faut attribuer le dégagement d'acide carbonique qui gonfle la pâte, se trouvent probablement dans la farine, et proviennent, comme ceux qui interviennent dans la préparation de la chicha, de la surface du grain.

CHAPITRE V

BACTÉRIES

---

§ 1. — *Propriétes générales et développement des bactéries.*

Les bactéries, schizophytes ou schizomycetes, sont constituées par des cellules variables de dimensions et de forme, dont le grand diamètre ne dépasse ordinairement pas 10 μ; elles sont rondes, ovales, cylindriques, filamenteuses, droites, courbes ou en spirales *(fig. 15).*; la plupart sont animées de mouvement.

Chaque cellule est formée d'une membrane d'enveloppe très mince, qui résiste à l'action d'agents chimiques énergiques, tels que ammoniaque, acide acétique, iode, acide sulfurique étendu, etc., et renferme un protoplasma hyalin dépourvu de noyaux, mais contenant souvent des vacuoles, et devenant granuleux dans les vieux éléments.

La plupart des bactéries, surtout les grandes, sont pourvues d'un ou plusieurs cils vibratiles ou *flagellum* qui paraissent être des organes moteurs; aussi est-il probable que toutes les espèces mobiles en sont

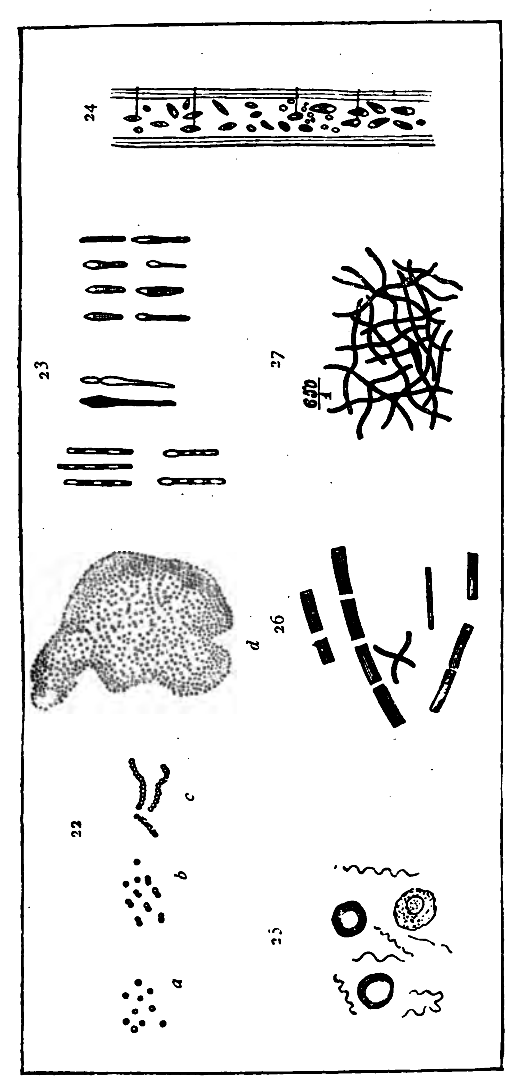


Fig. 22 à 27. — Bactéries diverses : Fig. 22, *a*, *b*, *c*, *d*, *bacillus prodigiosus* et ses différents aspects ; 23. bacillus amylobacter à ses divers états de développement ; 24. le même dans une cellule végétale dont il absorbe le contenu ; 25. spirillum ; 26. bacille de la malaria ; 27. vibrions.

pourvues, et c'est ce que confirment chaque jour les progrès de l'étude microscopique.

Les bactéries se reproduisent de deux façons : reproduction par *sporulation*, ou multiplication par segmentation ou *scissiparité*. Chacun de ces modes correspond à un état particulier des conditions de milieu dans lesquelles se trouvent les bactéries ; dans les conditions les plus favorables, milieu nutritif convenable, peu ou point de produits de fermentation, absence de contact avec l'air, la vitalité des microbes est à son maximum et ils se reproduisent par scissiparité ; au contraire, à la fin des fermentations, quand certains aliments ont disparu pour faire place aux produits desassimilatiofs de plus en plus nombreux, ou encore au contact de l'air ou d'une fermentation intercurrente, la prolifération des bactéries se fait par sporulation.

Dans la multiplication par scissiparité, la cellule s'allonge, le protoplasma s'éclaircit au milieu, une cloison se forme à cet endroit perpendiculairement au grand axe, et donne ainsi deux cellules qui se séparent ensuite, subissant plus tard chacune une nouvelle segmentation ; il se produit souvent un étranglement au niveau de la cloison. Les cellules nouvellement formées peuvent ne pas se séparer complètement, et, restant unies, constituer des chaînes de 2, 3, 4 éléments ou plus (torula).

La rapidité de cette multiplication est souvent très grande, d'ailleurs sous la dépendance immédiate des conditions de milieu et de la température ; quelques espèces n'opèrent leur séparation complète qu'en 50 minutes ; chez d'autres (cercomonade), elle devient effective en moins de 5 minutes et peut être facilement suivie au microscope.

Si l'on prend le chiffre de 60 minutes pour la durée de la séparation d'un élément en deux cellules filles, au bout de 1 heure on obtient deux cellules nouvelles, quatre au bout de 2 heures, 8 au bout de

3 heures, et après 24 heures, c'est-à-dire en une journée complète, le chiffre énorme de 2^{24}, soit plus de 16 millions 700 milles ; en deux fois 24 heures on aurait une prolifération de 281,475 milliards de microbes.

Etant donnée cette puissance de reproduction des microbes, on conçoit en quelle abondance ils doivent se trouver disséminés à la surface du globe, et avec quelle intensité doivent se produire leurs manifestations.

Dans les conditions défavorables que nous avons mentionnées, la multiplication des bactéries se fait par sporulation; le protoplasma primitivement homogène donne naissance, soit en son milieu ou à un bout ou même aux deux bouts à la fois, à un noyau très réfringent qui devient une spore cylindrique ou ovalaire, à contours très foncés. Les spores deviennent libres par la destruction de la cellule, mais ne germent d'ordinaire que dans un liquide de culture nouveau ; ce n'est, en effet, pas le cas de certains microbes, par exemple celui du lait bleu qui, ensemencé dans le liquide de Cohn (voir plus loin), se développe en bacilles mobiles, à l'une des extrémités desquels se forme une spore qui germe dans le liquide où elle devient libre, tandis que le bacille continue à vivre et à s'agiter.

Quand les cellules des microbes, par suite de leur premier mode de prolifération par segmentation, étaient réunies en chaînettes, les spores en résultant, emprisonnées dans une masse glaireuse nommée *zooglée*, restent quelque temps réunies bout à bout en longs filaments qui ne se segmentent que plus tard.

Ensemencées dans un liquide nutritif convenable, et au contact de l'oxygène libre (Pasteur), les spores se gonflent et doublent de volume en 2 heures ; leur contour devient moins net, puis il se produit deux pôles plus foncés entre lesquels, au bout de 1 ou 2

nouvelles heures, apparaît un renflement qui grossit, s'allonge rapidement hors de la spore, à laquelle elle reste liée pendant quelque temps, cherchant à s'en séparer par ses mouvements ; la jeune bactérie finit par devenir libre, laissant la spore inerte se refermer comme une coque vide, et reprend dès lors sa vitalité normale manifestée par la prolifération par scissiparité.

« La forme des spores est une forme protectrice » de l'être, et lui communique, comme nous le verrons, une sorte d'insensibilité vis-à-vis des agents » extérieurs. La forme vivante est, au contraire, » celle sous laquelle l'être doit pouvoir traduire les » influences du milieu ambiant par cet ensemble de » réactions qui constituent la vie. C'est celle que » nous envisageons de préférence. On sait qu'un » grand nombre d'espèces ne sont connues qu'à cet » état. » Duclaux.

§ 2. — *Composition immédiate des microbes.*

La détermination des principes immédiats des bactéries suppose qu'on peut isoler nettement ces dernières des milieux dans lesquels elles se sont développées ; il n'en est rien dans la pratique, du moins jusqu'à présent. Si l'on ensemence un liquide nutritif avec une espèce de vibrion, de façon à obtenir une abondante prolifération, et qu'on essaie ensuite de séparer, par le filtre, l'organisme du liquide nourricier, elles traversent d'abord le filtre, puis en obstruent complètement les pores. On a proposé de soumettre à la coction le liquide acidulé par l'acide chlorhydrique ; les bactéries se réunissent alors, réunies en coagulums floconneux, mais certainement altérées dans leur composition, et par l'action de l'acide, et par celle de la chaleur.

En présence de ces difficultés, on n'a encore sou-

mis à l'analyse que les bactéries de la putréfaction de la gélatine plus ou moins mélangées de zooglée, simplement lavées à l'eau acidulée par l'acide acétique, puis à l'eau distillée, et enfin essorées entre des feuilles de papier à filtre. Les chiffres qui suivent expriment les résultats de l'analyse élémentaire, déduction faite des cendres, pratiquée par MM. Nencki et Schoffer.

Analyse immédiate.

	Zooglée pure.	Bactéries adultes.
Eau	84,81	83,82
Albumines	85,76	84,20
Graisses	7,89	6,04
Cendres	4,20	4,72
Mat. non déterminées	2,15	5,04
	100,00	100,00

Analyse élémentaire.

	Zooglée.	Bactéries.
C	»	53.83
H	»	7,76
Az	14,47	13,92

Les matières albuminoïdes qui forment les 4/5 de la matière sèche des bactéries, sont constituées en grande partie par cette substance spéciale, la mycoprotéine, qui paraît très voisine, sinon identique à l'albumine de la levûre de bière qui a été analysée par Schlossberger, et à l'hémiprotéine de M. Schutzenberger, comme le montrent les chiffres suivants :

	Bactéries de la gélatine.	Albumine de la levûre.	Hémiprotéine.
C	53,43	55,5	52,66—54,83
H	7,52	7,5	7,01— 7,31
Az	14,71	13,9	14,22—15,08

On extrait la mycoprotéine en traitant les bactéries par une solution de potasse à 5 pour 1000; on obtient un résidu insoluble très faible, de 2 pour 100 pour la zooglée, de 5 pour 100 pour les bactéries, qui paraît de nature cellulosique et qui provient très probablement de la membrane d'enveloppe. La solution alcaline, neutralisée par un acide et saturée de chlorure de sodium solide, abandonne la mycoprotéine.

Cette substance est soluble dans l'eau, les alcalis et les acides; par ses caractères, elle se place, comme produit intermédiaire, entre les matières albuminoïdes et les peptones.

§ 3. — *Nutrition et conditions d'action des microbes.*

Chaque microbe vit de préférence dans un milieu favori qu'on détermine par des expériences comparatives, en opérant sur des liquides de composition diverse qui renferment tous, comme substances alimentaires, des matières azotées organiques ou ammoniacales, des composés ternaires (hydrocarbonés, acides végétaux, alcool, glycérine, etc.,) et des sels minéraux dont les principaux sont le phosphate de potasse et la magnésie.

On emploie le plus souvent des liquides dits *de culture*, tels que : albumine de l'œuf ou sérum sanguin étendus d'eau, urine normale neutralisée ou étendue d'eau de façon à marquer 1005, bouillons de viandes diverses neutralisés et de densité 1024, solution d'extrait de Liebig à 50 gr. par litre également neutralisée, petit-lait, jus de viande, décoction de levûre à 30 gr. par litre, sucs de fruits (raisins, fraises), ou de certaines légumes (concombre, betterave, oignon, etc.), infusion de foin, gélatine à 50 pour 1000 additionnée de sels minéraux, gelée d'agar-

agar rendue nutritive par l'extrait de viande ou les peptones, etc... etc...

Le *liquide de Cohn* a pour formule : 10 gr. de tartrate neutre d'ammonium, 5 gr. de phosphate bipotassique, 5 gr. sulfate de magnésium, 0,5 de phosphate de chaux pour 1 litre d'eau.

La formule suivante donne une gélatine nutritive excellente pour la culture des microbes des eaux potables : Gélatine 100, peptone 2, sucre 2, phosphate neutre de soude 2, blanc d'œuf battu n° 1, pour eau 1000 ; on coagule à la température du bain-marie bouillant et on passe sur filtre à enveloppe chaude.

A priori un liquide de culture des microbes est d'autant meilleur que, abandonné au contact de l'air, il devient plus vite un foyer de fermentation sous l'influence des germes qu'apportent les poussières atmosphériques, en d'autres termes qu'il est plus altérable. Or les différents liquides énumérés précédemment sont loin d'être aussi favorables les uns que les autres au développement des bactéries, et suivant Tyndall, il n'en est pas de plus altérable que le jus de concombre.

Dans ses recherches sur les microbes atmosphériques, M. Miquel a été amené à déterminer l'altérabilité relative de divers liquides ; ses résultats, comparés à celui que donne la solution aqueuse d'extrait de viande prise comme unité, sont des plus curieux.

	Stérilisation.	Degré d'altérabilité.
Liqueur de Cohn	à 100°	0,05
Albumine d'œuf	à froid.	0,22
Urine normale	à froid.	0,40
Urine normale	à 110°	0,50
Bouillon d'extrait de viande	à 110°	1,00
Sérum sanguin dilué	à froid.	6,00
Suc de choux dilué	à froid.	10,90
Jus de veau	à froid.	13,30

En général, pour un même liquide (l'urine exceptée), la stérilisation par filtration à froid donne une altérabilité plus grande que la stérilisation par la chaleur.

Chacun des liquides de culture que nous venons d'indiquer peut servir au développement d'un nombre plus ou moins grand de bactéries d'espèces différentes. Cependant chacune de ces dernières a un milieu de prédilection dans lequel, trouvant l'aliment qu'elle préfère à tous les autres, elle se développe avec plus d'intensité que dans les autres liquides ; et comme plusieurs de ces bactéries sont utilisées par le chimiste et l'industriel, pour la production de certains corps qui dérivent de la matière alimentaire par excellence de ces organismes, cette matière alimentaire constitue la *substance fermentescible*. C'est ainsi que le ferment lactique exige la présence d'une matière sucrée, que le ferment acétique ne se développe que dans les milieux alcooliques, produisant l'une de l'acide lactique, l'autre de l'acide acétique.

Ici encore, comme pour les moisissures, on retrouve les différences dans la facilité d'assimilation par les bactéries des modifications opposées des corps doués de pouvoir rotatoire, dont l'une est plus vite transformée et assimilée que l'autre, ce qui permet d'utiliser les bactéries, comme les moisissures, pour isoler celle des deux modifications qui est la plus réfractaire, du mélange optiquement inactif par suite d'une compensation ; c'est par ce moyen que M. Pasteur a pu isoler l'acide tartrique gauche, et M. Le Bel le propylglycol gauche de leurs modifications droites qui sont détruites les premières.

1. Réaction du milieu. — Les milieux dans lesquels se développent les bactéries doivent être neutres ou alcalins (Chamberland) ; cependant une faible acidité due à des acides organiques ne fait qu'en ralentir l'activité, sans y apporter une entrave complète ; mais quand la proportion d'acide augmente,

comme dans la putréfaction des matières organiques, l'état languissant des bactéries, joint à la réaction du milieu, favorise le développement des moisissures qui viennent détruire et brûler complètement les produits de déchets et de dédoublements provenant de l'action primitive des microbes.

Ces derniers sont très sensibles à l'action des acides minéraux même très étendus; et leur action est complètement paralysée par la présence d'une dose de 0,5 pour 100 de ces derniers.

2. *Influence de la température.* — Comme pour les moisissures, la température la plus favorable à la multiplication des bactéries est en général comprise entre 30 et 40°; au-dessous, il se produit un ralentissement d'autant plus sensible que la température est plus basse ; mais ce n'est que vers 0° que la vie est arrêtée, pour disparaître souvent au-dessous; une température plus élevée que celle qui correspond, pour chaque espèce, au maximum de prolifération atteint vivement cette faculté, mais elle disparaît à des degrés très variables suivant l'espèce. Ainsi le *bacillus anthracis*, bactéridie du charbon dont la température la plus favorable à son développement est de 36-37°, ne donne plus de spores à 42-43°; un peu plus haut, la reproduction par scissiparité est à son tour arrêtée; enfin on arrive rapidement au point où la vie cesse complètement, où la bactéridie est tuée. Nous avons ainsi l'explication d'une observation curieuse due à M. Pasteur : les inoculations de virus charbonneux sont inoffensives pour les oiseaux chez lesquels l'activité des combustions organiques maintient une température sensiblement plus élevée que chez les mammifères; mais il suffit de refroidir une poule inoculée de 4 ou 5°, pour lui faire contracter le charbon.

Le bacillus butilicus, dont la température la plus favorable est de 40°, fructifie encore abondamment à 42° dans la glycérine, et devient inactif à 45° (Fitz).

A la température de 100°, la plupart des microbes adultes périssent ; mais leurs spores résistent en général bien. Beaucoup de ces germes résistent à 120°, et même à 130°, s'ils ont été désséchés à une température relativement basse ; mais à cette température et au contact de la vapeur d'eau sous pression, elles sont toutes détruites sans exception ; il en est souvent de même à des températures inférieures, mais toujours au contact de l'eau ; et le degré correspondant à la disparition de la vie varie suivant les espèces d'où proviennent les spores. M. Miquel a encore déterminé le point auquel meurent les spores de diverses bactéries chauffées dans l'eau distillée pendant 2 heures.

Micrococcus vulgaire............ .	50 — 550
— ellipsoïdus.....	94 — 95
Bacillus elongatus.................	96 — 97
— subtilis..................	100 — 102
— ureæ............	94 — 95
Gros bacille......................	98 — 100
Bacterium termo.................	49 — 50
— en bâtonnets..........	49 — 50
Leptothrix ramosa...............	59 — 60

La *force de résistance de ces spores*, non seulement à la chaleur, mais aux intempéries, à la putréfaction, à l'action des sucs digestifs, est telle que, si les cadavres des animaux morts du charbon ne sont pas brûlés, ou inhumés profondément et couverts d'une épaisse couche de chaux vive, pendant de longues années, les spores de *bacillus anthracis*, ramenées à la surface par les vers de terre dont elles ont traversé le tube digestif, font périr du charbon les animaux qui viennent paître sur le terrain d'enfouissement. D'ailleurs, la bactéridie peut se perpétuer dans le sol, par une série de générations ; et c'est ainsi qu'on a trouvé des germes encore vivants douze ans après l'enfouissement dans la fosse d'un animal charbonneux (Pasteur).

3. *Action de l'oxygène.* — Les microbes se divisent, au point de vue de l'influence qu'exerce sur eux l'oxygène, en deux groupes opposés : l'un renferme les microbes aérobies, qui exigent pour vivre le contact de l'oxygène qu'ils empruntent à l'air, ou plutôt au liquide nutritif qui le contient en dissolution; ces microbes oxydent énergiquement les matériaux organiques du liquide et exhalent une quantité d'acide carbonique sensiblement égale au volume d'oxygène disparu; ils peuvent même enlever l'oxygène aux corps qui le renferment faiblement combiné, tels par exemple que le carmin d'indigo qui, introduit dans une culture faite à l'abri de l'air, perd peu à peu sa coloration bleue, preuve de sa réduction.

Dans l'autre groupe se placent les bactéries pour lesquelles l'oxygène est toxique, bactéries *anaérobies*.

Citons un exemple frappant, dû à M. Pasteur, de cette différence dans le fonctionnement des microbes, suivant leur affinité ou leur répulsion pour l'oxygène. On abandonne à l'étuve, à 35-40°, une solution de sucre de lait additionnée de craie en poudre, d'un peu de matière organique (vieux fromage), et de sels minéraux; le liquide devient le siège d'une fermentation lactique; une goutte examinée au microscope se trouve peuplée d'une quantité énorme de bactéries ténues et très mobiles, qui nagent dans toutes les directions; puis tout mouvement cesse au centre de la goutte où n'arrive plus l'oxygène; les bactéries se portent au pourtour pour y respirer, et y sont ramassées autour des bulles d'air emprisonnées dans le liquide. Ces organismes sont évidemment *aérobies*; ils absorbent l'oxygène du liquide : et une fois ce gaz entièrement disparu, ils deviennent inertes et tombent au fond du vase, cédant la place à une autre espèce d'êtres animés dont la présence est annoncée par un dégagement gazeux abondant, constitué par de l'hydrogène; ce sont les vibrions de la fermen-

tation butyrique, plus gros et plus allongés que ceux qu'ils ont remplacés, et qui, au microscope, se comportent d'une façon absolument opposée. C'est sur le pourtour de la lamelle que cessent le mouvement et la vie qui se concentrent au centre, à l'abri de l'oxygène; mais peu à peu ce gaz arrive par diffusion jusqu'au milieu de la préparation, et tout mouvement cesse. Le vibrion butyrique, essentiellement *anaérobie*, est tué par l'oxygène, dont il suffit d'ailleurs de faire passer quelques bulles à travers une fermentation butyrique en pleine activité pour l'arrêter.

Mais entre ces deux degrés opposés, il existe des termes intermédiaires, c'est-à-dire des espèces de bactéries qui vivent dans des atmosphères plus ou moins pauvres en oxygène, et périssent dans une atmosphère trop riche. D'ailleurs, comme nous le verrons bientôt dans l'étude de l'atténuation des virus, si les aérobies adultes vivent très bien dans l'air, ils finissent toujours par souffrir de son contact prolongé. Ainsi s'explique l'action toxique de l'oxygène pur et comprimé à 8 ou 10 atmosphères pour tous les ferments, même les aérobies par excellence, qu'a observée P. Bert; dans ces conditions, toute fermentation, toute putréfaction et en général tout phénomène qui exige l'intervention de ces êtres microscopiques s'arrête rapidement et définitivement.

Les spores des bactéries anaérobies sont infiniment moins sensibles qu'elles à l'action de l'oxygène; cependant il les tue par un contact prolongé au degré de dilution qu'il possède dans l'air, et rapidement sous l'influence de la pression.

4. *Action de divers agents physiques.* — La lumière paraît sans influence sur le développement des bactéries; l'électricité a une action manifeste, mais qui doit plutôt être attribuée à la nature des produits de décomposition électrolytique des élé-

ments salins des liquides de culture, c'est-à-dire à la réaction acide ou basique de ces produits.

§ 4. — *Atténuation des virus.*

Nous allons, dans ce paragraphe relatif à l'atténuation de l'action des bactéries virulentes, résumer d'une façon très succincte les résultats des beaux travaux de M. Pasteur sur le microbe du charbon et sur le virus de la rage.

Quand on ensemence un liquide de culture approprié avec un microbe, il pullule abondamment, et les phénomènes de la fermentation se manifestent tout le temps que le liquide contient de la substance fermentescible; l'oxygène de l'air extérieur est absorbé en grandes quantités et remplacé par de l'acide carbonique; mais une fois la fermentation achevée, on voit avec surprise qu'il y a encore absorption de l'un et dégagement de l'autre gaz, mais en très faible quantité, bien qu'il n'y ait plus d'élément nutritif oxydable. A ce moment la bactérie vit sur elle-même et oxyde ses propres éléments, sans trouver au dehors de quoi récupérer les pertes qu'elle éprouve dans sa propre substance; elle se résout en spores qui tombent au fond du liquide. Que devient dans ce cas sa fonction physiologique?

Si l'on soustrait complètement au contact de l'oxygène le liquide, au moment précis où la fermentation s'arrête, où la dernière trace de substance fermentescible disparaît, absorbée par la bactérie, celle-ci conserve intégralement son action et, ensemencée dans un autre milieu nutritif, reprend toutes ses qualités primitives.

De même, si l'on fait des ensemencements successifs d'une bactérie très virulente dans des liquides nutritifs convenables, en prenant une parcelle de liquide d'une fermentation en pleine activité pour

l'introduire dans un liquide neuf, et continuant indéfiniment de la même façon, la bactérie conserve intégralement sa virulence primitive et se perpétue à travers ses générations successives, avec ses caractères extérieurs et ses fonctions physiologiques. Mais il faut, pour cela, espacer de quelques jours seulement les ensemencements, ou ne laisser arriver au contact du liquide qu'une quantité limitée d'oxygène, sans quoi la prolifération du microbe est tellement rapide, qu'il consomme en peu de temps les aliments contenus dans le liquide et arrive à vivre sur lui-même, comme nous le disions précédemment.

Si l'on vient, au contraire, à espacer de plus en plus les ensemencements; si, par exemple, nous prenons le cas limité d'une durée de un ou deux mois, il peut arriver qu'à ce moment le microbe soit mort; s'il vit encore, sa fonction physiologique est profondément modifiée, et, de microbe virulent à l'égard des animaux et de l'homme qu'il était d'abord, il est devenu inoffensif. Injecté dans les veines, il se développe, mais sans manifester sa présence par un trouble fonctionnel appréciable chez le sujet inoculé.

Ainsi donc, au contact prolongé de l'oxygène de l'air, et avec un apport alimentaire nul ou insuffisant, les bactéries virulantes finissent par perdre leur virulence et meurent ensuite.

Reprenons maintenant notre bactérie primitive, par exemple le bacillus anthracis du charbon maintenu à l'air, à 42-43°, dans du bouillon de poule, et, de temps en temps, injectons dans les veines d'animaux une même quantité du liquide rendu homogène par l'agitation. Chose étonnante, nous voyons qu'avant d'atteindre le moment où il a perdu toute virulence, où il est reconnu inoffensif pour les animaux, il passe par tous les degrés d'une virulence décroissante. Après avoir tué un bœuf, il ne fait plus

périr qu'un mouton; puis c'est avec quelque difficulté qu'il fait mourir un cobaye adulte; enfin, il n'agit plus sur un cobaye adulte, mais sur un cobaye d'un jour; quelques jours plus tard, il ne tue même plus les cobayes d'un jour.

Mais ce qui est remarquable, c'est que la culture, obtenue dans un bouillon nouveau, du microbe prélevé dans le sang d'un animal mort après inoculation du liquide primitif, à un certain degré de virulence, conserve intégralement et indéfiniment cette virulence; en d'autres termes, nous pouvons obtenir, par une suite de cultures, des séries de bactéries présentant chacune un degré d'activité spécial et régulièrement décroissant. Et si l'on inocule un animal avec un de ces virus atténués, choisi de façon qu'après un trouble momentané, l'animal se rétablisse, il est devenu réfractaire aux inoculations du virus le plus virulent; le virus atténué est devenu un véritable *vaccin*.

Tels sont les résultats magnifiques des recherches de M. Pasteur sur le virus charbonneux, qu'il a plus tard confirmés par des expériences faites en grand sur des troupeaux de plusieurs centaines de moutons.

Mais, poursuivons. Le virus rabique, encore inconnu, a pour lieu d'élection le cerveau et la moelle des animaux enragés. En inoculant, par trépanation, un fragment de moelle de chien mort de la rage à la surface du cerveau d'un autre animal, celui-ci succombe rapidement, et sa moelle est à son tour toxique. Conservons, comme le fait M. Pasteur, une moelle fraîche d'animal rabique dans un flacon plein d'air maintenu sec par de la potasse caustique et conservé à basse température, et injectons, de temps en temps, un fragment détaché de la moelle entière et délayée dans un peu de bouillon, sous la peau d'un chien; les symptômes de la rage s'atténuent de plus en plus, et il arrive un moment, d'autant plus

rapproché que la température extérieure est plus élevée, où l'animal inoculé n'éprouve aucun trouble physiologique. Cette fois encore, nous vérifions l'action du contact prolongé avec l'air, manifestée par une décroissance progressive dans la virulence de la moelle. Il est donc possible d'avoir des moelles provenant d'animaux rabiques, conservées plus ou moins longtemps au contact de l'air sec, et constituant par cela même une échelle décroissante de virulence rabique analogue aux séries de bactéries charbonneuses obtenues dans les mêmes conditions.

Reprenons maintenant la bactérie charbonneuse qui appartient à la série la moins virulente, la plus atténuée de celles que nous avons préparées, par exemple celle qui tue le cobaye d'un jour. Inoculons le sang de celui-ci à un autre animal du même âge, de celui-ci à un troisième, et ainsi de suite : la virulence atténuée se renforce peu à peu ; la bacterie arrive à tuer des cobayes adultes, puis des moutons, puis des bœufs ; elle est revenue à sa virulence d'origine, qu'elle conserve définitivement si on ne l'atténue pas.

En opérant sur des moelles rabiques atténuées, M. Pasteur obtient des résultats du même genre, mais d'une importance capitale, non seulement pour la préservation, mais encore pour le traitement curatif de la rage. En faisant des inoculations d'abord quotidiennes de moelles non virulentes, puis de moelles plus récentes, et, espaçant de deux jours les inoculations des moelles de plus en plus virulentes, il arrive à injecter impunément un fragment de moelle très virulente, conservée depuis un jour ou deux seulement. A ce moment, le chien est rendu réfractaire à la rage ; « on peut lui inoculer du virus » rabique sous la peau, ou même à la surface du » cerveau, par trépanation, sans que la rage se dé» clare ». Bien mieux, en traitant de la même façon

les individus mordus par des chiens enragés, M. Pasteur enraie complètement cette terrible affection. Nous croyons inutile d'insister sur le service immense que, après tant d'autres, l'illustre savant a rendu à l'humanité.

§ V. — *Classification des bactéries.*

Il n'existe pas encore de système de classification naturel des bactéries.

Des essais nombreux ont été faits, qui sont basés sur la forme des cellules, leur grandeur, leur coloration, leurs mouvements, etc. Nous citerons celle de Cohn, qui est une des plus simples qu'on ait proposées.

Cohn range les diverses bactéries dans quatre groupes :

1° *Spherobactéries* ou bactéries globulaires, comprenant le genre unique *Micrococcus;* — petites cellules sphériques ou ovales, de 1 à 3 μ de diamètre, isolées ou réunies en chapelets *(torula)*, ou assemblées par tas de quatre, immobiles;

2° *Microbactéries*, bactéries en bâtonnets courts, comprenant encore un seul genre *Bacterium;* — cellules cylindriques plus longues que larges, isolées ou groupées par deux, trois ou quatre, jamais plus, mobiles ;

3° *Desmobactéries* ou bactéries en filaments très étroits ; comprend deux genres : *a) Bacillus*, filaments rectilignes, longs ou courts, disposés en chaînes d'articles souvent nombreux, mobiles ou immobiles; — *b) Vibrio*, filaments ondulés et mobiles;

4° *Spirobactéries* ou bactéries en filaments contournés, en forme de tire-bouchon, à mouvement rapide et reversible, comprend deux genres : *Spirillum* et *Spirochæte*, qu'on peut réunir en un seul.

Le genre *Leptothrix* est envisagé aujourd'hui comme résultant de la réunion, bout à bout, d'un grand nombre de desmobactéries, sans étranglement au niveau des articulations, ce qui les distingue des torulacées.

Au point de vue spécial des fermentations, c'est-à-dire de l'action des micro-organismes sur les composés fermentescibles, auquel nous devons nous placer, nous diviserons les fermentations produites par les bactéries, avec Henninger, d'après la nature des réactions chimiques qu'elles provoquent, avec des sous-divisions suivant la nature des substances fermentescibles. Dans ces conditions, la réaction chimique essentielle observée nous permettra de diviser la fermentation en quatre groupes :

1° Fermentations par hydratation;

2° Fermentations par dédoublement;

3° Fermentations par réduction;

4° enfin, fermentations par oxydation.

Deux des principaux modes de fermentations sont représentés par ceux qui consistent en phénomènes d'oxydation et ceux où il y a réduction; mais ces deux genres si opposés dans leurs résultats ne doivent pas nous conduire à une différentation trop absolue dans le fonctionnement des ferments aérobies et anaérobies, et nous faire admettre que les fermentations par réduction sont spéciales aux ferments anaérobies, et les fermentations par oxydation propres aux êtres aérobies. En effet, dans les oxydations les plus nettes produites par les microbes, dans la fermentation acétique ou nitrique, par exemple, le ferment vit et se développe; cette production de tissus organiques de nouvelle formation constitue un phénomène essentiellement réducteur; dans les décompositions produites par les anaérobies, dans la fermentation alcoolique par exemple, il y a, simultanément, réduction dans la formation de tissus nouveaux et dans la production de l'alcool, et oxydation

dans la formation de l'acide carbonique. Il ne faut donc pas conclure, d'une façon absolue, sur le rôle d'un ferment, d'après la nature de la réaction chimique principale qu'il provoque et qui attire le plus notre attention, ni oublier que, à côté de cette réaction qui tire l'œil, son activité se manifeste encore par d'autres réactions secondaires moins tangibles, qui ont souvent, malgré cela, une extrême importance.

CHAPITRE VI

FERMENTATIONS PAR HYDRATATION

Dans les fermentations par hydratation, la substance fermentescible, soumise à l'action de la bactérie active, fixe une ou plusieurs molécules d'eau pour donner, ou un dérivé hydraté à formule plus complexe, ou au contraire se résoudre en un nombre plus ou moins grand de produits de dédoublement. Dans le premier cas se trouve la fermentation de l'urée ; la putréfaction des matières albuminoïdes s'accompagne au contraire d'une résolution de leurs molécules en éléments plus simples.

§ 1. — *Fermentation ammoniacale.*

L'urée est un composé excrémentitiel d'origine animale, qui ne diffère du carbonate d'ammonium que par deux molécules d'eau en moins.

$$\underset{\text{Urée.}}{CH^4Az^2O} + \underset{\text{Eau}}{2H^2O} = \underset{\text{Carbonat. amm.}}{CO^3(AzH^4)^2}$$

Elle s'hydrate avec facilité quand on la chauffe au contact de solutions alcalines, ou simplement en solution aqueuse; il en est de même au contact des acides sous pression; la solution aqueuse froide se conserve longtemps, mais finit cependant encore par donner de l'ammoniaque; dans toutes ces circonstances l'urée se transforme en carbonate d'ammonium.

Les liquides naturels qui la renferment, l'urine notamment, conservés au contact de l'air, s'altèrent avec rapidité; la réaction du milieu, qui était d'abord acide, diminue progressivement, et en quelques jours devient fortement alcaline; le liquide sent fortement l'ammoniaque. Ici encore, c'est l'urée qui a éprouvé la même transformation que précédemment, mais plus vite que sa solution aqueuse froide, bien que le phénomène soit sous la dépendance de la température et de l'état de santé de l'individu qui a excrété l'urine. Nous verrons en effet que, dans certains cas, l'urine peut devenir ammoniacale dans la vessie.

Cette hydratation spontanée de l'urée constitue la fermentation ammoniacale (Dumas).

1. *Ferment de l'urée.* — L'altération de l'urine était connue depuis longtemps, mais restée inexpliquée; Fourcroy et Vauquelin avaient bien démontré qu'elle était due à la décomposition de l'urée, mais ne savaient à quelle cause la rattacher, lorsque les recherches de Muller et de M. Pasteur démontrèrent (1860) que l'urée fixait de l'eau pour se transformer en acide carbonique et ammoniaque, sous l'influence d'un organisme microscopique spécial, formé de globules sphériques plus petits que ceux de la levûre de bière, et réunis en chapelets (torulacée fig. 28). Cet organisme, entraîné avec les phosphates terreux de l'urine devenus insolubles par suite de l'alcalinité du liquide, se retrouve dans le dépôt blanc qui s'est tassé au fond des vases qui renfer-

ment l'urine, dépôt dont M. Jacquemart avait déjà reconnu l'activité spéciale sur les urines fraîches, en 1843.

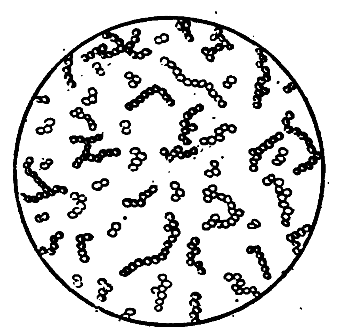


Fig. 28. — Micrococcus ureæ.

Plus tard, M. Van Tieghem a démontré l'existence constante de ce ferment dans toutes les fermentations ammoniacales de l'urée, et indiqué les meilleures conditions à réaliser pour la cultiver et l'obtenir pure. « Dans le cas, exceptionnellement
» réalisé, où cette torulacée se développe seule, le
» liquide reste limpide, la fermentation est prompte,
» et le dépôt qui se forme au fond du vase est exclu-
» sivement constitué par les chapelets et les amas
» de globules mêlés aux cristaux d'urates et de
» phosphate ammoniaco-magnésien. Si la torulacée
» n'est accompagnée que d'infusoires, ce qui est le
» cas le plus général, la fermentation, quoique un
» peu ralentie, est encore facile ; mais s'il apparaît,
» outre les infusoires, des productions végétales
» dans le liquide et à la surface, la torulacée se dé-
» veloppe péniblement, et la transformation est très
» lente, le liquide pouvant rester acide ou neutre
» pendant des mois entiers. Si, au lieu d'abandonner
» l'urine aux chances variables qu'y introduit l'ordre
» d'apparition des germes de l'air, on la place à

» l'étuve, dans un flacon bouché, en y ajoutant une
» trace du dépôt d'une bonne fermentation, toutes les
» variations accidentelles disparaissent, et le phéno-
» mène s'accomplit toujours de la même manière :
» un ou deux jours suffisent pour que l'urée dispa-
» raisse, et en même temps la torulacée se déve-
» loppe seule. » Il y a donc corrélation exacte entre le développement facile ou pénible du végétal et la fermentation rapide on lente de l'urée.

Le ferment de l'urée, *torulacée ammoniacale* (Van Tieghem) ou *micrococcus ureæ* (Cohn), est constitué par des chapelets rectilignes ou incurvés ou de petits amas de globules sphériques, dépourvus de granulations, sans enveloppe distincte, qui paraissent proliférer par bourgeonnement ; leur diamètre est en moyenne de 1 μ 5. Quand la fermentation est terminée, les chapelets de ferment, qui remplissaient tout le liquide, se brisent, et leurs débris tombent au fond du vase.

Indépendamment de cette torulacée, M. Miquel a découvert deux autres ferments capables de se développer dans l'urine, en la rendant ammoniacale. L'un est un bacille, le *bacillus ureæ*, trouvé dans l'eau d'égout du grand collecteur de Clichy, et formé de longs filaments grêles et mobiles, isolés ou réunis au nombre de 2, 3, 4 articles et plus, de 0μ 7 à 0μ 8 de largeur sur 5 à 6μ de long ; l'autre est une mucédinée.

Le bacillus ureæ a été étudié également par MM. Leube et Graser, qui l'ont décrit, en 1886, avec trois autres microorganismes ayant tous le pouvoir de décomposer l'urée en ammoniaque et acide carbonique et qui sont l'un, un microcoque, et les deux autres des bacilles.

Origine des ferments ammoniacaux. — Ces trois ferments se trouvent dans l'air, mais en proportions inégales et suivant les lieux ; le micrococcus ureæ est le plus abondant, puis vient, et bien loin derrière,

le bacillus, et enfin la moisissure; la quantité de germes contenus dans l'atmosphère est beaucoup plus considérable dans les villes que dans les campagnes, ce qui s'explique par la quantité plus grande de matière fermentescible excrétée dans les agglomérations de population (Miquel).

2. *Mode d'action.* — Si l'on introduit dans un flacon bien bouché de l'urine additionnée d'un peu du dépôt d'une fermentation ammoniacale urinaire, comme l'a fait Van Tieghem, et qu'on abandonne à 30°-40°, la torulacée se développe rapidement, tandis que les végétations parasites périssent ; et en 2 ou 3 jours l'urée a disparu ; il est hors de doute, après cette expérience, que la transformation de l'urée s'est produite au contact de la torula, et que celle-ci a trouvé, dans les éléments du liquide, les éléments organiques et minéraux nécessaires à son développement, c'est-à-dire les aliments azotés, hydrocarbonés et minéraux qui lui sont aussi indispensables qu'aux autres ferments. Mais quelle est, dans son essence, l'action du ferment ammoniacal sur l'urée ? par quel processus intime en provoque-t-elle l'hydratation ?

En 1876, M. Musculus observait qu'en précipitant par l'alcool les urines ammoniacales épaisses et filantes provenant de malades atteints de catarrhes vésicaux, on obtenait un précipité muqueux ; ce précipité lavé, desséché à basse température et pulvérisé, ajouté en petite quantité à une solution aqueuse d'urée pure, la transformait en peu de temps en ammoniaque et acide carbonique. Il en concluait à la présence, dans l'urine ammoniacale, d'un ferment soluble, d'une diastase analogue à celle de la salive, de l'orge germée, dont la présence suffit pour assurer l'hydratation de l'urée, et par suite était tout naturellement conduit à refuser au micrococcus de M. Van Tieghem et de M. Pasteur les propriétés de ferment. MM. Pasteur et Joubert firent disparaître cette con-

tradiction en montrant que, si la fermentation ammoniacale se produit réellement sous l'influence d'un ferment soluble, elle exige cependant la présence de la torulacée qui sécrète cette diastase, et arrivèrent à cette conclusion que, sans microbe, il n'y avait pas de ferment soluble, et, par suite, pas de fermentation ammoniacale ; on admit dès lors que le micrococcus ureæ secrète un ferment soluble qui se détruit au fur et à mesure de sa production, en opérant la décomposition de l'urée ; de sorte que le maximum de ce produit soluble, dans l'urine en décomposition, coïncide avec la disparition de l'urée dans le liquide.

3. *Ferment soluble ammoniacal.* — Nous venons de voir comment M. Musculus est arrivé à en reconnaître l'existence et à en démontrer l'action. Cette diastase est très instable ; nous savons déjà qu'elle se détruit à mesure que la transformation de l'urée progresse ; une température de 80 degrés, la présence de tous les acides même faibles, annihilent son action ; l'acide phénique n'a cependant pas d'influence. Un papier à filtre imprégné de cette diastase et coloré par du curcuma, constitue un bon réactif de l'urée ; introduit dans un liquide neutre contenant de l'urée, il se colore rapidement en brun, quand on abandonne à 37-40 degrés (Musculus).

4. *Composés fermenticibles.* — L'urée n'est pas le seul corps qui soit décomposé sous l'influence du micrococcus ureæ ; dans cette action, il y a simple fixation de l'eau ; or, il existe dans l'urine des herbivores, un composé également azoté, l'acide hippurique qui, pendant la fermentation ammoniacale de l'urine, se décompose avec production d'acide benzoïque, et cet acide hippurique possède, comme l'urée, la propriété de se dédoubler, par hydratation, sous l'action de certains agents chimiques (acides à 100 degrés) en acide benzoïque et glycocolle :

$$\underset{\text{Ac. hippurique.}}{C^9H^9AzO^3} + H^2O = \underset{\text{Ac. benzoïque.}}{C^7H^6O^2} + \underset{\text{Glycocolle.}}{C^2H^5AzO^2}$$

Ces deux phénomènes, ce dédoublement avec hydratation préalable, ne sont-ils pas le résultat d'un même processus, ne sont-ils pas dus l'un comme l'autre au micrococcus? L'expérience démontre que les productions organisées des urines des herbivores en fermentation, ne renferment que le micrococcus qui y prend un développement que l'on ne rencontre pas dans celles des carnivores; d'autre part, ensemencé dans une solution d'hippurate d'ammonium dans de l'eau de levûre ou de l'eau sucrée contenant des phosphates, il le transforme en acide benzoïque et forcément en glycocolle (Van Tieghem), et comme aucun de ces produits n'a, sur le ferment, l'action irritante et nocive de l'ammoniaque, on conçoît pourquoi il se développe si facilement, et avec une sorte de prédilection, dans les urines des herbivores.

Il est également probable que les autres composés azotés de l'urine n'échappent pas à cette action, et que ceux qui, comme l'acide urique, la xanthine, la créatinine, peuvent, par hydratation avec ou sans oxydation concomitante, donner naissance à des produits de dédoublements nouveaux, sont transformés plus ou moins complètement en ces dérivés.

5. *Conditions de l'action du ferment.* — L'activité de la fermentation ammoniacale est en fonction directe du *nombre* de globules de ferment (Muller). La *température* la plus favorable est celle du corps humain (37 degrés); une température plus élevée diminue l'activité du ferment, et peut même la détruire définitivement; il en est ainsi d'une température de 54 degrés maintenue pendant deux heures (Miquel).

La *réaction du milieu* nécessaire au ferment est très intéressante à étudier. Les alcalis sont absolument nécessaires au développement de la torulacée qui continue à fonctionner même dans des liquides très alcalins; la fermentation ammoniacale ne s'arrête qu'en présence de 13 pour 100 de carbonate d'am-

moniaque (Van Tieghem), proportion en présence de laquelle la destruction de toute cellule végétale est d'ailleurs assurée, et qui exerce sur la peau, et à plus forte raison sur la muqueuse vésicale, une action saponifiante et irritante très sensible. Les acides minéraux mettent rapidement hors d'agir le ferment ammoniacal et surtout la partie soluble qu'il sécrète ; l'acide borique est surtout actif (Pasteur). Un certain nombre d'acides organiques agissent de la même façon, par exemple les acides tartrique, acétique, salicylique. Le phénol paraît sans influence, aussi bien à l'égard du ferment figuré que de sa diastase.

Comme *aliments* indispensables, la torulacée exige du phosphore, du soufre, du potassium et du magnésium, une substance azotée (urée, oxamate de soude, ammoniaque), et du carbone qui peut être fourni par des hydrates de carbone, la glycérine, les sels sodiques d'acides gras. Certains corps, le glycocolle, l'asparagine, la créatine, les hippurates, les peptones peuvent servir à la fois d'aliments azotés et carbonés.

La *lumière* a une action très curieuse sur le *micrococcus ureæ ;* les dépôts floconneux de ferment se produisent tous sur la paroi la plus directement éclairée.

Enfin, la composition de *l'atmosphère* ambiante paraît sans influence ; qu'elle soit formée d'azote, d'hydrogène, d'acide carbonique, d'oxyde de carbone ou de gaz d'éclairage, la fermentation marche également bien (Miquel).

6. *Fermentation ammoniacale dans l'organisme vivant.* — Dans certains cas de catarrhe chronique de la vessie, surtout chez les vieillards, les urines, au moment de leur émission, sont fortement ammoniacales ; le même fait a encore été observé à la suite de lésions rénales et dans la fièvre typhoïde. Quelle est donc la cause de cette modification d'apparence spontanée, éprouvée par l'urine ? Quand elle est de-

venue ammoniacale à la suite d'un sondage de la vessie, on peut admettre qu'un germe de torulacée a pu être introduit par le cathétérisme, et provoquer la fermentation; mais, en dehors de cette hypothèse, alors qu'il n'y a pas eu la moindre opération antérieure, l'explication du phénomène devient plus difficile, et il paraît y avoir désaccord avec la théorie générale des fermentations, qui n'admet pas l'hypothèse de la matière hémi-organisée produite par les tissus eux-mêmes (Frémy), mais exige l'apport d'un germe initial venant de l'extérieur.

M. Poggiale (1876), sans nier l'action de la torulacée, a invoqué l'intervention d'une matière organique spéciale, d'origine pathologique, et capable de produire le même effet. M. Bouley a attribué cette action au mucus, au pus, au sang; et cependant M. Pasteur et un grand nombre de chirurgiens, entre autres MM. Gosselin et Albert Robin, ont toujours trouvé la torulacée dans les urines ammoniacales, au moment de leur émission; d'autre part, MM. Cazeneuve et Livon (1877) ont vérifié la corrélation constante entre l'urine ammoniacale et la présence du ferment, en montrant, par neuf expériences *in anima vili*, que l'urine acide ou alcaline ne devient ammoniacale que lorsqu'elle est au contact de l'air; enfin, M. Musculus a pu extraire la diastase spéciale sécrétée par la torulacée, des urines devenues ammoniacales dans la vessie.

Nous sommes donc autorisés à croire, avec M. Pasteur, que le germe de la torulacée provient de l'extérieur; c'est pour lui une impression qui résulte de ses études prolongées sur les ferments et de sa longue expérience, et si l'esprit se heurte à quelque impossibilité pour admettre la possibilité de la pénétration du germe jusque dans la vessie, le savant chimiste nous invite à nous rappeler que le canal de l'urèthre, relativement aux infiniment petits qui agissent comme ferments, est, à leur égard, ce que le

tunnel de la Tamise est pour l'homme qui y circule sans la moindre difficulté.

Mais si l'apport des germes jusque dans la vessie est si facile, comment se fait-il que les urines ammoniacales ne soient qu'une exception ? Tout simplement parce que les urines, même en dehors de l'organisme, ne fermentent pas avec la même facilité ; ce qui tient aux conditions physiologiques de la paroi qui les renferme et à la réaction même du liquide ; rappelons que le micrococcus ureæ ne s'accommode pas d'un liquide de culture acide, comme l'est précisément l'urine normale ; d'ailleurs, MM. Feltz et Ritter ont vu que l'introduction, dans la vessie, de sondes imprégnées de ferment, souvent ne rendaient pas ammoniacales les urines d'animaux bien portants. On comprend dès lors que, suivant la réaction de l'urine, sa composition, l'état physiologique de la vessie, l'ensemencement soit plus ou moins facile ; et l'on arrive ainsi à l'explication des résultats qui, au premier abord, paraissent complètement et définitivement discordants.

7. *Recherche de l'urée dans les eaux potables.* — Il arrive trop souvent que des puits ou des sources reçoivent les liquides de déchets de l'économie animale, soit qu'une fosse à purin ait été placée au voisinage d'une galerie de captation ou du bouge de recueil général de ces galeries, soit qu'une fosse d'aisances non étanche laisse les liquides suinter dans le sol et arriver jusqu'au puits, ou enfin pour toute autre cause ; cette contamination est grave surtout parce que le liquide d'infiltration entraîne souvent avec lui les germes de maladies diverses, et que le puits ou la source contaminée peut devenir la cause d'une véritable épidémie qui sévit sur les individus qui font usage de son eau ; c'est ainsi que s'expliquent tout naturellement certaines épidémies de fièvre typhoïde qui frappent cruellement la plupart des habitants d'une maison dont l'eau est ensuite recon-

nue contaminée. M. Brouardel a d'ailleurs montré que, dans l'épidémie de choléra qui a sévi sur Gênes en 1885, les individus atteints appartenaient aux quartiers alimentés par une même source, tandis que les quartiers qui sont restés indemnes recevaient l'eau d'une autre source non infestée.

Tout récemment, M. Brouardel (1) a communiqué à l'Académie des sciences (1886) une intéressante observation d'épidémie de fièvre typhoïde qui a sévi à Pierrefonds, en août et septembre 1886, sur des familles venues en villégiature de Paris et de Versailles ; sur 23 personnes habitant 3 maisons contiguës, 20 furent atteintes et 4 succombèrent ; en étudiant le sous-sol de la ville, on y a constaté l'existence d'une nappe d'eau de 2 à 3 mètres de profondeur coulant dans des sables reposant sur un banc d'argile plastique, et dont la surface n'est qu'à 1 mètre 5 au-dessous du niveau du sol ; aussi a-t-il suffi, pour avoir de l'eau, de creuser des puits en forme de trous ; mais la nappe d'eau souterraine est en communication immédiate avec les fosses d'aisances construites simplement en moellons non cimentés, et par suite non étanches et dans lesquelles on écoule les eaux pluviales des toitures. Dès que survient une pluie un peu abondante, l'eau envahit les fosses, dilue les matières et les entraîne dans les couches de terrains périphériques, et de là dans les puits fournissant l'eau potable (?). Dans l'eau des maisons dont les habitants ont été si cruellement éprouvés, MM. Chantemesse et Vidal ont trouvé, le 15 octobre, 25.000 bacilles par litre, parmi lesquels ils ont reconnu le bacille pathogène de la fièvre typhoïde.

La conclusion de tous ces faits est qu'on doit rejeter d'une façon absolue, des usages domestiques, les eaux contaminées par des produits de nature

(1) M. Brouardel, *Annales d'hygiène.*

excrémentitielle, et par conséquent celles qui renferment de l'urée.

On recherche facilement l'urée, dans les eaux potables, au moyen du papier de Musculus (voir p. 177), ou d'un papier préparé de la façon suivante : on filtre sur papier blanc une urine en fermentation ammoniacale, on lave le filtre avec de l'eau jusqu'à disparition de toute réaction alcaline, puis on le colore avec une solution aqueuse concentrée de curcuma ; on sèche ensuite lentement à l'air, et l'on découpe le papier en bandelettes qui restent imprégnées chacune d'un certain nombre de globules de torulacée à l'état de vie latente. On introduit 50 à 100 centimètres cubes de l'eau suspecte dans un flacon lavé avec la même eau, on ajoute une bandelette de papier préparé, et on abandonne le vase fermé dans un endroit chaud (40° environ) ; au bout de 12 à 24 heures, le papier et le liquide se sont colorés en brun, s'il y a la moindre trace d'urée.

CHAPITRE VII

FERMENTATIONS PAR DÉDOUBLEMENT

---

§ 1, — *Fermentation lactique.*

1. *Généralités.* — Un grand nombre de liquides naturels, d'origine végétale ou animale, abandonnés à l'air dans de certaines conditions, éprouvent une décomposition spontanée de leur sucre avec production d'un acide incristallisable, très soluble dans l'eau, l'acide lactique ; ce phénomène constitue la fermentation lactique, dans laquelle le sucre éprouve un simple dédoublement moléculaire, avec modification dans la constitution des molécules nouvelles qui constitue l'acide lactique :

$$\underset{\text{Glucose.}}{C^6H^{12}O^6} = \underset{\text{Ac. lactique.}}{2C^3H^6O^3}$$

Cette transformation est depuis longtemps connue ; cependant, ce n'est qu'en 1780 que Scheele découvrit dans le lait aigri l'acide lactique, que, en 1807, Berzélius démontra être un acide particulier, et dont Mitcherlich et Liebig fixèrent la constitution

en 1832. Depuis lors, Braconnot l'à trouvé dans les eaux mères d'amidonneries, le riz fermenté sous l'eau, le jus de betteraves fermenté, la jusée des tanneurs, l'eau de fermentation des pois et haricots bouillis, l'eau acide du levain de boulanger. Il existe également dans l'eau de choucroute, d'où Liebig a proposé de l'extraire. On le trouve dans le pain; et la fermentation lactique joue peut-être un rôle important dans la panification; il se forme souvent dans certaines bières aigres et dans certains vins tournés. Enfin, il s'en produit encore fréquemment dans la fermentation alcoolique, à cause de la présence d'un peu de ferment lactique dans les levûres; c'est pourquoi l'on a cru à tort que l'acide lactique est un des produits secondaires de cette fermentation, au même titre que la glycérine et l'acide succinique, jusqu'au jour où les travaux de M. Pasteur ont démontré qu'il ne s'en forme pas la moindre quantité dans les fermentations alcooliques normales; mais la source la plus commode et la plus employée est le lait aigri; et diverses méthodes ont été indiquées par Boutron et Frémy, Pelouze et Gélis, Bensch, etc., pour transformer en acide lactique le sucre de lait ou d'autres matières sucrées ajoutées au lait aigre.

Elles consistent essentiellement à ajouter à du lait une certaine quantité de sucre, glucose ou saccharose, de la craie en poudre, à bien mélanger et à attendre que la fermentation se produise d'elle-même; ou bien on la provoque par l'addition de vieux fromage pourri.

Le mélange étant abandonné à 30-35°, la fermentation se déclare plus ou moins vite, la craie se dissout dans l'acide lactique, et son acide carbonique se dégage; on obtient du lactate de chaux.

Quant à la cause initiale du phénomène, à l'agent qui provoque le dédoublement du sucre, au ferment lactique, c'est à M. Pasteur que revient encore l'hon-

neur de l'avoir découvert en 1857, alors cependant que MM. Boutron et Frémy, les premiers, avaient considéré cette transformation comme le résultat d'une fermentation spéciale, et que Remak avait entrevu le ferment lactique à l'état de mélange dans de la levûre de bière, et que Blondeau l'avait caractérisé en partie, au point de vue de son action.

Il est superflu d'ajouter que, comme pour tous ses congénères, le germe initial de toute fermentation lactique spontanée lui est apporté par l'air. L'addition de vieux fromage équivaut à un véritable ensemencement.

1. *Culture du ferment lactique, sa description.* — Si l'on examine attentivement une fermentation lactique produite dans un mélange de lait, de sucre et de craie, on voit quelquefois, à la surface du dépôt, au fond du vase, des taches grises que l'examen microscopique différencie à peine du caséum desagrégé ; d'autres fois, ces taches ne se produisent pas, leur substance restant mélangée au dépôt de caséum et de craie. Si l'on sème une trace de ce dépôt dans de l'eau de levûre sucrée et additionnée de craie et qu'on abandonne le mélange à 30 ou 35 degrés, la fermentation se déclare rapidement, et quand elle est terminée, on trouve au fond du vase une matière qui, prise en masse, est analogue à la levûre de bière, quoique plus visqueuse et plus grise, et qui n'est autre chose que le produit de la prolifération de la petite quantité de ferment ensemencé au début de l'expérience. Au microscope, M. Pasteur lui a reconnu les caractères suivants : le dépôt est formé d'éléments beaucoup plus petits que ceux de la levûre de bière, légèrement étranglés en leur milieu, isolés en général et alors animés du mouvement brownien, et rarement réunis en chaînes de deux à trois éléments ; leur largeur est d'environ 1 μ 3 à 1 μ 6, et leur longueur à peu près double ; c'est donc un bacterium. (fig. 29.)

3. *Nutrition du ferment lactique.* — Le ferment lactique exige, lui aussi, des matières alimentaires convenables ; ses aliments minéraux sont les mêmes que ceux de la levûre de bière (p. 85). Il peut même se contenter d'aliments exclusivement minéraux, pourvu qu'ils renferment un sel ammoniacal, et dans ce cas, son développement plus rapide et plus énergique que celui de la levûre de bière, lui permet de supplanter cette levûre semée dans un liquide sucré additionné d'éléments minéraux, parmi les-

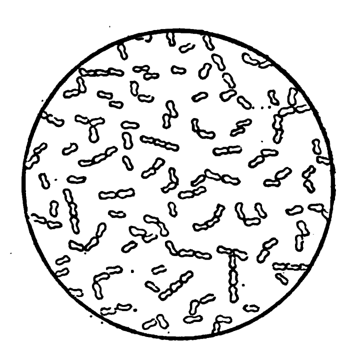


Fig. 29. — Ferment lactique.

quels un sel d'ammoniaque. — Tous les sucres, capables de subir la fermentation lactique peuvent servir d'aliments hydrocarbonés au bacterium lactique, et même il semble que ce dernier préfère les sucres réfractaires à l'action des levûres ; c'est ainsi que le sucre de lait, qui ne fermente pas alcooliquement, se transforme en acide lactique plus facilement que la glucose ; c'est pour cela qu'un jus sucré de fruits contenant du sucre interverti naturel, abandonné à l'air, se montrera plus favorable au développement des levûres, tandis que le lait s'aigrira toujours. Le lait est donc le meilleur liquide pour faire des fermentations lactiques,

d'autant plus que, outre l'aliment hydrocarboné, la lactose, le ferment lactique y trouve les sels minéraux et les matières albuminoïdes qui lui sont nécessaires. Cependant M. Schutzenberger dit que le jus d'oignons brut, employé comme aliment azoté, constitue le liquide le plus convenable pour les cultures pures de ferment lactique, parce que son huile essentielle s'oppose au développement des ferments parasites (alcoolique, butyrique).

4. *Substances fermentescibles.* — Les glucoses et les sucres conversibles en glucose sont seuls susceptibles de subir la fermentation lactique et, comme nous l'avons dit d'après M. Schutzenberger, ce sont les saccharoses qui se transforment le plus difficilement en alcool qui se dédoublent au contraire le plus vite en acide lactique; se comporte ainsi tout spécialement la lactose ou sucre de lait.

Il résulte cependant des recherches de M. Bourquelot (1883) que les sucres du groupe des saccharoses tels que le sucre de cannes, la lactose et la maltose subissent directement la fermentation lactique sans se transformer au préalable en glucoses, de sorte que leur transformation peut être représentée par la formule générale :

$$\underset{\text{Lactose.}}{C^{12}H^{22}O^{11}} + H^2O = \underset{\text{Ac. lactique.}}{4C^3H^6O^3}$$

La sorbine, l'inosite, la dulcite et le mannite, qui ne fermentent pas alcooliquement, sont facilement attaqués par le ferment lactique.

Le malate de chaux, et en général tous les corps capables de subir la fermentation butyrique, semblent encore donner de l'acide lactique. Mais l'équation de la réaction n'exprime plus un simple dédoublement en deux ou plusieurs molécules identiques d'acide lactique, comme c'est le cas des sucres. Ainsi l'acide malique se dédouble en acide lactique et gaz carbonique.

$$C^4H^6O^5 = C^3H^6O^3 + CO^2$$
Ac. malique. Ac. lactique,

Produits de la fermentation des sucres. — La molécule de l'acide lactique représentant exactement la moitié de celle des glucoses ou le quart de celle des saccharoses augmentée d'un peu d'eau :

$$C^6H^{12}O^6 = 2C^3H^6O^3$$
Glucose.

$$C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O = 4\,C^3C^6O^3$$
Saccharose.

il est évident à priori que le seul produit de la fermentation des sucres sera l'acide lactique ; et le rendement pratique des fermentations pures, qui est d'accord avec le calcul, sauf la petite quantité d'élément hydrocarboné absorbée directement pour former les tissus du ferment, vient confirmer l'exactitude de cette hypothèse.

Mais quand la fermentation lactique se produit aux dépens de substances autres que les sucres, comme par exemple l'acide malique, des produits accessoires apparaissent qui, dans le cas particulier, sont représentés par l'acide carbonique.

La mannite et la dulcite, qui diffèrent de la glucose par une molécule d'hydrogène en plus, se dédoublent en deux molécules d'acide lactique et en hydrogène libre.

$$C^6H^{14}O^6 = C^6H^{12}O^6 + H^2 = 2\,C^3H^6O^3 + H^2$$
Mannite. Glucose. Ac. lactique.

Dans les conditions habituelles de la fermentation lactique, alors qu'on ne prend pas toutes les précautions pour avoir une culture pure, il se dégage souvent de l'hydrogène et de l'acide carbonique ; mais ces produits sont complètement étrangers à la fermentation principale, et sont le résultat d'une fermentation butyrique accessoire et secondaire qui

s'effectue, comme nous le verrons, aux dépens de l'acide lactique.

6. *Conditions de l'action du ferment lactique.* — Une très minime *quantité* de ferment lactique peut transformer une quantité très considérable de sucre, à condition que le milieu renferme les *substances alimentaires* minérales, hydrocarbonées et albuminoïdes qui lui sont nécessaires, et dont nous avons déjà parlé.

M. Richet a démontré, à ce propos, que l'ébullition du lait diminue de moitié l'activité de la fermentation, par suite de la coagulation d'une matière albuminoïde soluble, et que l'addition de peptones ou de sucs digestifs pouvant en produire dans le lait, aux dépens de la caséine, augmente au contraire la rapidité de la fermentation.

L'*acidité* du liquide doit être constamment saturée. En effet le serment lactique ne vit bien que dans un liquide neutre ou peu acide ; son action s'arrête dès que la *réaction* acide du milieu dépasse 15 gr. par litre; cette influence néfaste de l'acide lactique était connue aussi depuis longtemps; d'où l'indication de le neutraliser au fur et à mesure de sa production, soit par du bicarbonate de soude (Boutron et Frémy), soit par le carbonate de chaux (Gobley, Beusch), soit par l'oxyde de zinc (Lautermann).

Suivant M. Cazeneuve, l'urine ammoniacale serait un excellent milieu pour la fermentation lactique dont le produit s'unit à l'ammoniaque pour donner du lactate ammonique.

L'influence de la *proportion* plus ou moins grande *de la matière fermentescible* sur le ferment lactique n'a fait l'objet d'aucune recherche, ce qui tient sans doute à ce que les corps sucrés employés d'ordinaire, étant neutres au tournesol et ne possédant pas d'action antiseptique spéciale, ne peuvent guère agir sur les êtres organisés placés au contact de leur solution que par des phénomènes d'osmose, sensibles seule-

ment avec des solutions concentrées; ainsi, il est bien certain que le ferment lactique ne pourrait se développer dans le sirop de sucre même additionné des sels minéraux et des matières azotées nécessaires à la nutrition du ferment, et cela parce qu'il perdrait par exosmose une grande partie de son eau de constitution, qu'il subirait en quelque sorte une dessication partielle au sein même de la solution sucrée.

Mais dans la pratique, on se place dans des conditions voisines de celles que réalise le lait qui contient 52 à 55 grammes de lactose au litre, et l'on ne dépasse pas la proportion de 100 grammes de matière sucrée par litre de liquide fermentescible.

La *température* agit sur le ferment lactique dans le même sens que sur les autres ferments. D'après M. Richet, avec le lait aigri, l'activité de la fermentation croit jusqu'à 44° et reste constante de 44° à 52°; elle décroît ensuite à mesure que la température augmente; elle est éteinte longtemps avant l'ébullition, et cependant le ferment n'est définitivement tué qu'au-dessus de 100°.

Cette *résistance du ferment* lactique est telle qu'il peut être desséché sans perdre son activité, qu'il recouvre dès qu'on lui rend son eau d'hydratation; nous avons vu un phénomène du même genre pour les spores des microbes; et cependant le ferment lactique, une fois la fermentation terminée, conserve très longtemps sa vitalité dans le liquide, sans qu'il semble donner naissance à des spores.

La fermentation lactique ne se produit bien qu'au contact d'une *atmosphère gazeuse* oxygénée; le ferment lactique, essentiellement *aérobie*, épuise rapidement l'oxygène du liquide dans lequel il vit, et doit en trouver de nouveau à la surface; M. Richet a établi que son action est plus rapide au contact de l'oxygène pur, et qu'en faisant passer un courant de ce gaz dans le liquide qui fermente, on pourrait rendre la fermentation dix fois plus active.

D'autre part M. Duclaux a prouvé qu'elle ne se produisait plus dans une atmosphère d'acide carbonique, mais se déclarait dès qu'on laissait pénétrer de l'air dans le ballon d'expérience.

Si l'on détermine une fermentation lactique dans un ballon plein d'oxygène pur, la fermentation, très vive au début, s'arrête dès que tout l'oxygène a disparu ; cet oxygène est remplacé par un volume d'acide carbonique à peine égal au quart de son volume propre. Et comme la transformation du sucre en acide lactique est un simple dédoublement qui ne s'accompagne d'aucun dégagement de gaz carbonique, l'oxygène disparu est donc employé exclusivement par la cellule du ferment lactique.

L'action des *antiseptiques* a été peu étudiée jusqu'à présent sur le bacterium lactique ; l'acide phénique n'annihile son action que quand il se trouve en quantité plus grande que celle que peut dissoudre le liquide ; nous verrons que le vibrion butyrique est très sensible au phénol ; on peut donc éviter une fermentation butyrique concomitante, dans la fermentation lactique, par l'addition d'une certaine quantité d'acide phénique qui, tout en tuant l'un, ne fait que ralentir un peu l'action de l'autre (Richet).

7. *Formule d'un liquide fermentescible.* — Maintenant que nous connaissons dans leur détail les conditions du développement du ferment butyrique, il est facile d'établir une formule de liquide fermentescible qui réalise tous les désiderata d'une bonne fermentation.

Nous ne donnerons pas les formules diverses qu'ont indiquées MM. Boutron et Frémy, Pelouze et Gélis Bensch, pour lesquelles on peut se reporter aux mémoires originaux ; nous avons dit en quoi elles consistent essentiellement.

Les proportions les plus convenables, d'après M. Schutzenberger, sont les suivantes :

Eau	1000 parties.	
Lactose, saccharose, glucose, mannite, etc.	100	—
Caséine ou vieux fromage	10	—
Craie pulvérisée.......................	00	—

Le mélange est abandonné dans un vase ouvert, à la température de 35 à 40 degrés, et remué de temps en temps pour assurer l'oxygénation du liquide ; au bout de 8 à 10 jours, la masse est prise en un magma de lactacte de chaux qu'on purifie par cristallisation et dont on extrait l'acide par un procédé approprié, tel que le déplacement par l'acide sulfurique.

Suivant M. Bensch, le rendement est de 10 kil. 500 de lactate de chaux pour 9 kilogr. de sucre.

§ 2. — *Fermentation lactique du lait.*

Le lait est constitué par une solution aqueuse de lactose, caséine et sels, tenant en suspension des globules de graisse émulsionnée.

La proportion moyenne de ces divers éléments est la suivante, pour le lait de vache :

Caséine.................	36gr0	par litre.
Beurre...........	40 0	—
Lactose..	55 0	—
Sels................	0 6	—
Eau................ ...	901 4	—
Poids du litre.....	1033 0	

Tout le monde sait que le lait, abandonné à lui-même dans un vase ouvert, et surtout en été, est exposé à *tourner*, c'est-à-dire à se coaguler spontanément, surtout au moment de la cuisson quand on le fait cuire tardivement. Ce phénomène, que l'on observe fréquemment par les temps orageux, s'explique

très bien étant donnée la composition du lait et la transformation de la lactose qu'il renferme en acide lactique. Et, en effet, pour que le lait tourne, il faut et il suffit qu'il s'y développe une quantité d'acide lactique suffisante pour que la caséine qui, en somme, peut être considérée comme un albuminate alcalin, ne puisse plus rester en solution par suite du changement de réaction du lait, et l'expérience démontre que la sensibilité de la caséine à l'action des acides augmente notablement avec la température. Ainsi, alors qu'il faut une addition de 1/100 d'acide acétique pour coaguler du lait à la température ordinaire, il suffit de 4/1000 à 35° et de 1/2000 à 100°.

Au moment de la traite, le lait normal est neutre ou plutôt légèrement alcalin ; conservé même au frais, il s'acidifie peu à peu, et d'autant plus vite qu'il subit davantage le contact de l'air, et qu'il est plus au chaud ; dès qu'il est devenu acide, le caséine devrait se coaguler, c'est du moins ainsi qu'elle se comporte quand elle est en solution aqueuse ; mais le lait renferme des sels minéraux, et parmi eux, des phosphates alcalins qui possèdent la propriété curieuse de retarder la précipitation de la caséine par les acides ; aussi n'est-ce que quand la proportion d'acide lactique atteint 7 à 8 pour 1000° en moyenne que la coagulation s'effectue spontanément (Marchand).

Mais l'on voit encore intervenir nettement la ques tion de température ; aussi un lait qui ne se coagule, à la température ordinaire, que quand il renferme 5 à 6 grammes d'acide lactique par litre, se coagule déjà quand on le fait cuire, alors qu'il n'en contient que 3 grammes (Segelcke).

M. Richet a étudié certaines conditions particulières de cette coagulation spontanée du lait ; il a trouvé, entre autres choses, que le lait congelé ne perd aucune de ses propriétés fermentescibles, et que le lait bouilli une demi-heure ne peut plus acquérir

qu'une acidité moitié moindre que le même lait non bouilli.

Après ce que nous venons de dire de la coagulation du lait, il est facile de voir que, pour l'éviter, il faudra ou supprimer la cause de la production de l'acide, ou neutraliser l'acide à mesure qu'il se forme.

Le premier procédé repose sur l'action des antiseptiques, dont les plus employés, dans ce cas, sont l'acide salicylique, l'acide borique et le borate de soude. Dans le second procédé, qui est le plus souvent appliqué, on additionne le lait de carbonate ou plutôt de bi-carbonate de soude, qui neutralise l'acide lactique, mais n'en arrête pas la production.

Ce n'est pas le lieu de discuter ici les avantages et les inconvénients de ces moyens ; disons seulement que les antiseptiques, s'ils agissent sur le ferment lactique, ne sont pas indifférents aux diastases, et que, par suite, la digestion d'un lait salicylé doit être plus difficile que celle du lait pur ; quant au carbonate de soude qui n'arrête pas la fermentation, et permet seulement au laitier de distribuer son liquide non caillé chez ses clients, il forme du lactate de soude dont la proportion va croissant, et qui agit comme purgatif sur le tube digestif des enfants élevés au biberon.

Le mieux serait certainement de faire subir au lait une courte ébullition qui détruirait les germes provenant du pis de la vache, et permettrait de le conserver quelques jours dans les vases où il serait introduit bouillant ; malheureusement le consommateur ne veut pas de lait bouilli, et préfère le lait crû additionné de bicarbonate de soude.

§ III. — *Fermentation visqueuse des sucres.*

La fermentation visqueuse ou mannitique des sucres précède très souvent les fermentations lactique et butyrique; elle se développe d'ailleurs toujours dans les liquides capables de subir ces fermentations acides, tels que décoctions de levûre filtrée et sucrée, eaux de farine, d'orge ou de riz additionnées de sucre, jus sucrés naturels, tels que jus de betteraves. Son caractère principal est de rendre le liquide visqueux, muqueux.

Elle se développe dans certains vins, de préférence les vins blancs, et constitue la maladie de la graisse, qu'on a attribuée à l'insuffisance du tannin, d'où l'addition de tannin au vin blanc, proposée comme remède à cette altération. (François.)

Cette même fermentation peut se produire dans certaines préparations pharmaceutiques renfermant du sucre et des composés azotés (sirop de codéine, par exemple).

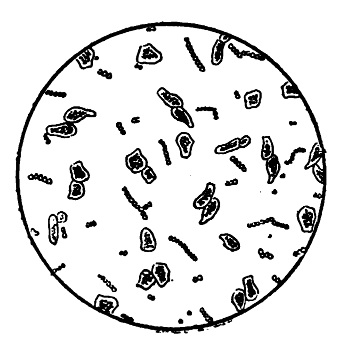


Fig. 30. — Ferment mannitique.

Elle est provoquée par un ferment spécial qui a été signalé tout d'abord par M. Péligot, et que

M. Pasteur a étudié et cultivé; il est constitué par de petits globules ronds, de 1 μ 2 à 1 μ 4, isolés ou réunis en chapelets, à côté desquels se trouvent souvent d'autres cellules irrégulières, un peu plus grosses que les globules de levûre de bière (fig. 30).

Semé dans un liquide sucré contenant des matières minérales et albuminoïdes, il agit, vers 30°, sur la glucose ou sur le sucre de canne préalablement interverti, et les transforme en une variété spéciale de gomme, en mannite et en acide carbonique: 100 de sucre donnent environ 51.09 de mannite et 45.5 de gomme, ce qui correspond à l'équation

$$\underset{\text{Saccharose.}}{25C^{12}H^{22}O^{11}} + 25H^2O = \underset{\text{Gomme.}}{12C^{12}H^{20}O^{10}} + \underset{\text{Mannite.}}{24C^6H^{14}O^6} + 12CO^2 + 12H^2O.$$

que M. Monoyer a proposé de dédoubler en deux équations distinctes, respectivement en relation avec la production de la gomme et de la mannite :

$$\underset{\text{Glucose.}}{13\ C^{12}H^{24}O^{12}} + 12\ H^2O = \underset{\text{Mannite.}}{24\ C^6H^{14}O^6} + 12\ CO^2$$

$$\underset{\text{Glucose.}}{12\ C^{12}H^{24}O^{12}} = \underset{\text{Gomme.}}{12\ C^{12}H^{20}O^{10}} + 24\ H^2O$$

ce qui serait d'accord avec ce fait que, dans certaines fermentations visqueuses où la proportion de gomme l'emporte sur celle de la mannite, le liquide renferme des globules irréguliers beaucoup plus gros, et qui paraissent différents de ceux que nous avons décrits, d'où la possibilité de la coexistence de deux ferments, l'un mannitique, l'autre gommeux. (Pasteur.)

La variété spéciale de gomme qui se produit ainsi, et rend le liquide glaireux, se rapproche plus de la dextrine que de la gomme arabique; son pouvoir rotatoire est voisin de celui de l'amidon soluble, dont il a la composition centésimale; l'acide sulfurique étendu la dédouble, à l'ébullition, en dextrine et en glucose fermentescible; enfin, l'acide azotique con-

centré la transforme en acide oxalique, sans production d'acide mucique.

Cette altération spéciale des sucres est peut-être en relation avec la transformation, qui survient quelquefois spontanément, des mélasses, dans les sucreries et les distilleries, en une liqueur visqueuse tenant en suspension des grumeaux insolubles, le tout formant une masse gélatineuse compacte, appelée gomme de sucrerie en France, et frai de grenouille en Allemagne.

CHAPITRE VIII

FERMENTATIONS PAR RÉDUCTION

De toutes les fermentations, les fermentations par réduction sont les plus nombreuses et les plus variées, tant par la nature de la substance fermentescible et du ferment, que par celle de leurs produits; une partie de la matière fermentescible est complètement brûlée et transformée en acide carbonique et eau, aux dépens de l'oxygène d'une autre partie du même corps qui laisse alors un résidu plus riche en hydrogène et souvent en carbone. Ce résidu tantôt se complique en donnant une substance polymère, tantôt, au contraire, se simplifie par dédoublement ou tout autre genre de décomposition. Une partie de l'hydrogène de la matière organique primitive peut être mise en liberté; cet hydrogène, naissant dans un milieu alcalin, possède des propriétés réductrices analogues à celles de l'amalgame de sodium; il réduit l'indigo bleu en indigo blanc, les nitrates en nitrites, le sucre interverti en mannite, mais il est sans action sur les sulfates.

Les fermentations nombreuses qui appartiennent à ce groupe ne peuvent être classées méthodiquement, chaque substance fermentescible pouvant subir l'action de plusieurs ferments différents, tout en donnant des produits de décomposition complètement dissemblables. Le moyen le plus pratique est de les étudier en réunissant en petits groupes les diverses décompositions que subit chaque composé fermentescible.

A part la fermentation butyrique, que nous étudierons avec quelques détails, nous ne ferons guère qu'une énumération des autres fermentations de ce genre, presque toutes étudiées par M. Fitz.

§ Ier. — *Fermentation butyrique.*

L'acide butyrique peut prendre naissance aux dépens d'un assez grand nombre de substances, telles que : acide lactique, sucre, cellulose; acides tartrique, citrique, malique, etc.; il se produit aussi dans la décomposition putride des matières albuminoïdes; mais son mode de production le plus économique et qui le donne en plus grande abondance, est la fermentation du lactate de chaux.

On a vu, dans l'étude de la fermentation lactique, qu'à côté du bactérium lactique, se développait très fréquemment le vibrion butyrique, d'où une production simultanée et partielle de butyrate de chaux, s'accompagnant d'un dégagement spécifique d'acide carbonique et d'hydrogène. Dans certains cas, il arrive même que l'acide lactique disparaît en totalité, transformé en acide butyrique. Mais l'on était resté ignorant des causes de cette transformation, jusqu'au moment où les travaux de M. Pasteur vinrent encore donner la solution du problème.

1. Culture du ferment butyrique; ses caractères. — Pour obtenir une fermentation butyrique pure,

M. Pasteur se sert d'un ballon à deux tubulures, dont l'une, recourbée, plonge dans une capsule de porcelaine et sert de tube abducteur de gaz, tandis que l'autre, verticale, est terminée en entonnoir et munie d'un robinet de verre. Il y introduit huit à dix litres d'eau pure, tenant en dissolution 225 grammes de lactate de chaux, 0,75 de phosphate d'ammoniaque, 0,4 de phosphate de potasse, 0,4 de sulfate de magnésie, enfin 0,2 de sulfate ammonique. Le ballon rempli, et la capsule dans laquelle plonge la tubulure recourbée garnie du même liquide, on porte simultanément les deux vases à l'ébullition, de façon à chasser l'air et à tuer les germes; puis on laisse refroidir le ballon, qui se remplit du liquide de la capsule, maintenu bouillant, et on le porte dans une étuve chauffée à 25° ou 30°, où on maintient la tubulure ouverte plongée dans le mercure; on introduit alors quelques gouttes d'une fermentation butyrique en activité dans la tubulure à entonnoir, *en évitant l'accès de l'air,* et on les fait passer dans le ballon.

La fermentation se déclare bientôt ; des bulles gazeuses de plus en plus grosses et nombreuses se dégagent, formées d'un mélange d'acide carbonique et d'hydrogène; le liquide clair se trouble et l'acide lactique disparaît, transformé en butyrate de chaux. Si l'on examine une goutte du liquide en pleine fermentation, au microscope, on la voit remplie d'une multitude de vibrions très agiles, dont les mouvements disparaissent bientôt au bord de la lamelle, et persistent plus longtemps au centre de la préparation par suite de l'absence d'air (voir p. 164.)

Ces vibrions constituent le *fermentum butyricum* (fig. 31) de M. Pasteur qui le décrit comme suit : ce sont de petites baguettes cylindriques arrondies aux extrémités, ordinairement droites, isolées ou réunies par chaînes de 2, 3 ou 4 articles et même davantage; leur largeur est d'environ 2 μ et leur longueur de

2 à 20 μ; ces organismes s'avancent en glissant : les chaînes d'articles sont mobiles sur leurs articulations, et leurs mouvements sont alors balancés, lents et doux.

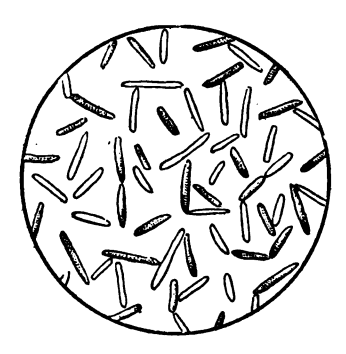


Fig. 31. — Vibrion butyrique.

Le ferment butyrique est identique au *bacillus subtilis* de Cohn, au *vibrio subtilis* d'Ehrenberg, au *bacillus amylobacter* de Trécul ; il se reproduit par sporulation ; en un point de l'article, le protaplasma se renfle et se transforme en une spore qui s'isole par résorption du tissu environnant, et tombe inerte au fond du vase ; à ce moment la fermentation cesse ; transplantée à l'abri de l'air dans un liquide nourricier nouveau, la spore régénère de nouveaux bâtonnets de bacille, et provoque la fermentation butyrique.

D'après M. Pasteur, les spores du ferment butyrique auraient la propriété de résister à l'action de l'oxygène, et peut-être auraient même besoin de subir son influence passagère ; ces germes, répandus dans l'atmosphère, sont transportés de tous côtés et, quand le hasard s'y prête, arrivent au contact de milieux appropriés où ils donnent naissance aux bacilles qui deviennent les agents de la fermentation butyrique.

M. Fitz a observé et décrit un autre ferment butyrique du lactate de chaux, lequel se voit formé de petites cellules rondes groupées en chapelets, de 1 μ. 6 de diamètre, et se reproduisant par scissiparité.

2. *Substances fermentescibles.* — Le lactate de chaux n'est pas le seul corps qui, sous l'influence du vibrion butyrique, peut se transformer en acide butyrique.

Les matières sucrées, les amylacés, la cellulose, la glycérine, l'arabine, la lichénine, les acides tartrique, citrique, malique, les matières albuminoïdes sont capables de subir la fermentation butyrique, directement ou après transformation préalable en acide lactique; les matières sucrées, amylacées et cellulosiques seraient probablement transformées au préalable en glucose, sous l'action d'une diastase sécrétée par le microbe (van Tieghem).

3. *Produits et équation de la fermentation butyrique.* — Le produit principal de la fermentation qui nous occupe est l'acide butyrique; sa formation aux dépens des sucres et de l'acide lactique est traduite avec la plus grande simplicité par la formule suivante :

$$\underset{\text{Lactose.}}{C^{12}H^{22}O^{11}} + \underset{\text{Eau.}}{H^2O} = \underset{\text{Glucose.}}{2\,C^6H^{12}O^6} = \underset{\text{Ac. lactique.}}{4C^3H^6O^3} = \underset{\text{Ac. butyr.}}{2C^4H^8O^2} + \underset{\text{Ac. carb.}}{4CO^2} + \underset{\text{Hydr.}}{4H^2}$$

qui, si l'on veut tenir compte de l'état de l'acide lactique et de l'acide butyrique sous forme de combinaisons calciques, devient :

$$\underset{\text{Lactate de chaux.}}{2(C^3H^5O^3)^2Ca} + H^2O = \underset{\text{Butyrate de chaux.}}{(C^4H^7O^2)^2Ca} + \underset{\text{Carb. de ch.}}{CO^3Ca} + 3\,CO^2 + H^2$$

En réalité, la réaction chimique n'est pas exactement représentée par les formules, et la production de gaz carbonique et hydrogène, outre qu'elle semble varier dans le courant de la fermentation, n'est pas dans la proportion qu'elles indiquent ; d'ailleurs il se

forme quelquefois de l'alcool butylique $C^4H^{10}O$, qui ne trouve place dans aucune formule.

Dans la fermentation butyrique des corps autres que les hydrates de carbone, des produits accessoires prennent naissance, tels que l'acide acétique, l'acide propionique, l'acide valérique, l'acide succinique, sur le mode de production desquels la lumière est loin d'être faite.

Cependant on a essayé de formuler certaines réactions, et spécialement celles qui concernent l'acide citrique et l'acide tartrique ; l'acide citrique se dédoublerait par hydratation en acides lactique, acétique et carbonique, avant de subir la fermentation butyrique (Personne).

$$\underset{\text{Ac. citrique.}}{4\,C^6H^8O^7} + 2\,H^2O = \underset{\text{Ac. lactique.}}{4\,C^3H^6O^3} + \underset{\text{Ac. acétique.}}{3\,C^2H^4O^2} + 6\,CO^2$$

Quant à l'acide tartrique, il subirait la fermentation butyrique, soit directement, soit après transformation préalable en acide lactique.

$$\underset{\text{Ac. tartrique.}}{2\,C^4H^6O^6} = \underset{\text{Ac. butyriq.}}{C^4H^8O^2} + 4\,CO^2 + 2\,H^2O$$

$$3\,C^4H^6O^6 = \underset{\text{Ac. lactique.}}{2\,C^3H^6O^3} + 6\,CO^2 + 3\,H^2$$

Pour l'acide malique, on aurait :

$$\underset{\text{Ac. malique.}}{2\,C^4H^6O^5} = \underset{\text{Ac. lactique.}}{2\,C^3H^6O^3} + 2\,CO^2 = \underset{\text{Ac. butyrique.}}{C^4H^8O^2} + 4\,CO^2 + 2\,H^2$$

4. Conditions d'action du ferment butyrique. — L'optimum de température est de 25 a 30° : un abaissement notable, même jusqu'à 15°, ne fait que ralentir le mouvement du bacille, qui peut résister à 105°, ce qui permet de l'isoler des autres organismes ; il suffit pour cela de l'ensemencer dans un liquide bouillant.

La réaction du milieu doit être neutre ou légèrement alcaline ; les germes du vibrion butyrique ne

peuvent se développer dans un milieu acide ; cependant une fois formé, le bacille peut vivre et se développer dans un liquide acide sans excès d'acidité ;

Nous avons déjà vu le rôle important que joue l'*oxygène* sur l'activité du ferment butyrique qui, suivant M. Pasteur, non seulement vit sans oxygène libre, mais est tué par ce gaz ; cette conclusion paraît en contradiction avec la théorie respiratoire des fermentations, d'après laquelle les organismes inférieurs doivent leur pouvoir de ferment à la propriété de respirer ou du moins de vivre aux dépens de l'oxygène de substances fermentescibles ; cette contradiction n'est peut-être qu'apparente, et pourrait tenir à ce que l'oxygène libre qui, sous pression, est éminemment toxique pour tous les organismes (P. Bert), l'est déjà à la pression ordinaire pour le ferment butyrique essentiellement anaérobie ; rien ne prouve que celui-ci n'exige pas et ne se contente de faibles traces d'oxygène, renfermées dans des limites très étroites, au delà desquelles se manifeste l'action pathologique du gaz ; et à certains moments de son existence, le bacille butyrique ne peut-il, comme la levûre de bière, exiger le contact d'une quantité appréciable d'oxygène pour lui rendre une vitalité qui va s'affaiblissant dans les générations successives ? On peut d'ailleurs admettre que ses spores, que nous avons vues réfractaires à l'action de l'air, et qui assurent la continuité dans l'espèce, font provision de la quantité d'oxygène nécessaire pour la continuation de l'activité du microbe.

§ 2. *Fermentations diverses par réduction.*

La *glycérine* peut être mise en fermentation par divers microbes dont l'action a été étudiée par M. Fitz ; sous l'influence du *bacillus œthilicus* qui se trouve dans l'eau de lavage du foin, elle se trans-

forme en alcool $C^2 H^6 O$; le *bacille succinique* agit de la même façon ; le *micrococcus cyaneus* du pus bleu donne, à côté de petites quantités d'alcools homologues, une matière colorante bleue, la *pyocyanine*, et sa substance chromogène qui se colore à l'air ; le microbe du pus orangé donne encore de l'alcool éthylique. Sous l'influence du *bacillus butylicus*, bacille anaérobie du foin, la glycérine donne de l'alcool butylique et de l'acide butyrique ; les matières sucrées subissent une décomposition analogue.

Le *bacillus œthylicus* sécrète une diastase qui saccharifie les *hydrates de carbone,* amidon, dextrine, etc., qui se transforment ensuite en acide butyrique avec traces d'alcools éthylique et butylique, acides acétique et succinique ; cette fermentation de l'amidon serait même un des meilleurs modes de préparation de l'acide butyrique dont on obtient 34 gr. 7 pour 100 de fécule (Fitz).

La *cellulose* jeune, sous forme de tranches de pomme de terre, disparaît (Mitscherlich) sous l'influence du *bacillus amylobacter* (Trécul) identique au vibrion butyrique qui l'hydrate d'abord, et transforme ensuite la glucose formée en acide butyrique (Prazmowski et Van Tieghem).

Les recherches les plus précises faites sur la digestion de la cellulose par les animaux supérieurs ont démontré l'absence complète de toute sécrétion diastasique capable de l'expliquer ; et cependant les herbivores digèrent très bien cet hydrate de carbone, témoin le lapin qui, nourri avec des feuilles de raves, absorbe 90/100 de la cellulose ingérée ; mais en étudiant le contenu de l'estomac des ruminants et du jabot des oiseaux, on y trouve des grains gonflés et tellement ramollis que, écrasés entre les doigts, ils donnent une goutte laiteuse dans laquelle le microscope montre les grains intacts de matière amylacée, dépouillés de leur enveloppe

celluleuse et nageant dans un liquide qui renferme des milliers de bacilles de Trécul; c'est donc à la présence de ces microbes, ingérés avec les aliments, qu'il faut attribuer la dissolution digestive de la cellulose qui se transforme en glucose et dextrine, et laisse à nu les grains d'amidon qu'elle englobait dans les cellules végétales; ces globules d'amidon, soumis à l'action triturante de l'organe dans lequel se fait cette liquéfaction du grain, sont amenés au contact intime du suc pancréatique qui les saccharifie à leur tour. Le même phénomène doit se produire chez l'homme ; mais ce dernier, par suite de circonstances physiologiques particulières, ne peut digérer que la cellulose la plus tendre et par conséquent la plus jeune, c'est-à-dire précisément celle que le bacille consomme le plus facilement.

La cellulose semble également attaquée par une bactérie minuscule qui se trouve dans la vase des marais, où elle transforme les matières organiques en hydrogène, hydrogène protocarboné et acide carbonique (Le Bel et Müntz); et c'est probablement à ce microbe ou à un microbe analogue qui se dépose sur le foin, que doit être attribuée la fermentation qui se produit quelquefois avec grande énergie dans la panse des herbivores qui se remplit d'hydrogène protocarboné et d'acide carbonique et qui constitue une des formes du météorisme des bêtes à corne.

Outre la fermentation butyrique, le *lactate de chaux* peut encore subir la fermentation propionique, au contact du bacille propionique, d'après la formule probable :

$$3\,C^3H^6O^3 = 2\,C^3H^6O^2 + C^2H^4O^2 + CO^2 + H^2O$$

Ac. lactique. Ac. propionique. Ac. acét.

Ce bacille agit dans le même sens sur le malate de chaux.

La fermentation du malate de chaux, et, plus éco-

nomiquement, celle du tartrate d'ammonium sous l'influence de microbes spéciaux, est une des sources de l'acide succinique dont la production est représentée par les formules suivantes :

$$3\,C^4H^6O^5 = 2\,C^4H^6O^4 + C^2H^4O^2 + 2\,CO^2 + H^2O$$
Ac. malique. Ac. succiniq. Ac. acétiq.

$$3\,C^4O^6H^6 = C^4H^6O^4 + 2\,C^2H^4O^2 + 4\,CO^2 + 2\,H^2O$$
Ac. tartriq. Ac. succin. Ac. acétique.

Pour l'acide tartrique, le rendement en acide succinique est d'un peu plus de 25/100, alors que la théorie indique 26,2 (Kœnig).

L'asparagine, les acides maléique, fumarique, aconitique et aspartique peuvent également subir la fermentation succinique, sous l'influence d'un infusoire très répandu dans toutes les eaux, la *bactérie commune* de M. Miquel.

§ 3. — *Action réductrice de certains microbes.*

Un certain nombre de composés qui renferment de l'oxygène dans leur constitution, éprouvent des phénomènes de réduction au contact d'organismes spéciaux du groupe des ferments; cette action est attribuée surtout à l'hydrogène qui se dégage quelquefois, mais pas toujours, dans les fermentations anaérobies, et qui, sous l'état naissant, transformerait, par exemple, l'acide lactique en acide propionique, l'acide malique en acide succinique, les sulfates en sulfures, etc. Dans certains cas, le rôle de l'hydrogène paraît bien net; mais cependant il est des fermentations qui donnent de l'hydrogène libre, sans qu'on trouve d'action réductrice sur les corps environnants; certains ferments de la caséine dégagent de l'hydrogène sans qu'il se manifeste aucune odeur du liquide, tandis que d'autres produisent nettement de l'hydrogène sulfuré.

Il s'en suit que nous ne devons pas attribuer exclusivement à une action secondaire de l'hydrogène, les phénomènes de réduction que nous allons étudier, mais que la fonction physiologique de l'organisme qui le produit intervient aussi, dans certains cas, et ne doit pas être systématiquement laissée de côté.

1. *Transformation du soufre en hydrogène sulfuré.* — On trouve en abondance, dans l'eau d'égout, les eaux potables et quelquefois dans l'eau de pluie, un microbe globulaire de 1 μ. de diamètre qui, dans les milieux très nutritifs, s'allonge en bacille; ce microbe est un agent énergique de la transformation en hydrogène sulfuré du soufre des matières albuminoïdes, du caoutchouc vulcanisé et même du soufre libre (Miquel). L'optimum de température est de 30 à 35°.

Dans un liquide nutritif exempt de tout composé sulfuré, il dégage de l'acide carbonique et de l'hydrogène; c'est donc bien à cet hydrogène qu'est due, en majeure partie, la production de l'acide sulfhydrique, dont la production secondaire ne constitue pas plus un phénomène de fermentation que ceux que nous allons encore passer en revue.

Si le milieu est alcalin, le gaz sulfhydrique forme des sulfures, et l'activité du microbe est telle que, en présence de l'urée qui se transforme en carbonate d'ammonium, le liquide peut renfermer, au bout de soixante-douze heures, 0 gr. 7 de sulfhydrate ammonique par litre; il agit sur les matières albuminoïdes en dégageant, dans le même temps, jusqu'à 70 centimètres cubes de gaz sulfhydrique par litre de liquide; à cette dose, l'hydrogène sulfuré arrête la fermentation et le ferment passe à l'état de spores.

2. *Réduction des sulfates.* — Quand on ajoute à de l'eau contenant du sulfate de chaux et des matières organiques, des sulfuraires provenant d'une source sulfureuse et plus vulgairement connues sous le nom

de *barrégine*, de *glairine*, elles se développent et déterminent la production de sulfures. La présence des sulfuraires est nécessaire pour cette réduction; elle ne se produit plus si on chauffe le liquide ensemencé, ou si on l'additionne de chloroforme, et reprend après ensemencement nouveau ou disparition du chloroforme. Cet effet de sulfuration des eaux sous l'influence des sulfuraires, par suite d'une réduction des sulfates, a été démontré d'abord par M. Planchud, qui y a vu le résultat d'une action vitale particulière. MM. Etard et Olivier ont ensuite reconnu que ces sulfuraires, si fréquentes dans les eaux sulfureuses des Pyrénées, sont des algues du groupe des *Oscillatoriées*, nommées *Beggiatoa*, qui vivent aussi dans les eaux douces, les lacs et les mares; elles sont constituées par des filaments très fins entourés de matière muqueuse, rigides, à mouvements oscillatoires, dont le protoplasma renferme des granulations sombres, solubles dans l'éther, le chloroforme et surtout le sulfure de carbone, et constituées par du soufre; ces granulations, qui n'apparaissent que quand le liquide dans lequel on cultive l'algue est sulfaté, sont une preuve sans conteste que la réduction s'accomplit bien, ici, dans l'organisme vivant.

D'autres algues ont été étudiées, qui provoquent des phénomènes analogues de réduction des sulfates; les unes sont des oscillaires filamenteuses bleues, d'autres appartiennent au genre *Ulothrix*.

Etant donné la fréquence de ces algues dans les eaux sulfureuses, et le peu de matière organique nécessaire à leur prolifération, on comprend facilement que, se développant dans la profondeur de la terre, à une température convenable, au contact d'amas de sulfates, elles puissent charger indéfiniment, et d'une façon sensiblement constante, les courants d'eau souterrains dans lesquels elles baignent, de sulfures et d'hydrogène sulfuré, et soient ainsi la

cause première de la minéralisation d'eaux thermales qu'on expliquait autrefois uniquement par la dissociation des sulfures métalliques au contact de la vapeur d'eau à haute température et sous pression, ou par la réaction des silicates alcalins sur les pyrites, avec formation, dans le premier cas, d'oxyde et d'hydrogène sulfuré, dans le second de sulfures alcalins et de silicates de fer et de cuivre.

3. Réduction des nitrates. — Nous avons vu précédemment les nitrates se former dans le sol par l'oxydation de l'ammoniaque provoquée par un microbe aérobie spécial découvert par MM. Schlœsing et Müntz ; c'est le phénomène inverse, c'est-à-dire la réduction des nitrates, qui va nous occuper.

Les eaux ne renfermant primitivement que des nitrates, abandonnées à elles-mêmes, peuvent donner plus tard les réactions des nitrites ; pour que cette réduction s'opère, l'eau doit contenir des éléments hydrocarbonés ; elle ne se produit plus ou s'arrête, en présence du chloroforme, de l'acide phénique ou de la chaleur ; ces faits, observés par M. Meusel, ont été attribués par lui à l'action de bactéries auxquelles l'hydrocarboné sert d'aliment ; cet aliment hydrocarboné peut-être un sucre, un alcool, mais non pas un acide, en présence duquel il ne se produit plus de nitrites, ceux-ci étant décomposés, dans le milieu acide en acide azotique et bioxyde d'azote.

Le phénomène a été étudié de plus près par MM. Gayon et Dupetit qui ont observé que, en abandonnant un mélange de nitrate et d'eau d'égout sucrée ou de bouillon de poule, le liquide se peuple d'abondants organismes anaérobies, sous l'influence desquels la réduction en nitrite s'effectue, et peut même aller jusqu'à la production d'azote dont la quantité peut correspondre à 1 gramme de nitrate de potasse par litre et par jour. Ici encore la matière organique et l'aliment hydrocarboné sont nécessaires à la réduction qui s'arrête sous l'action de la chaleur, du

chloroforme, du sulfate de cuivre, mais non plus du phénol et de l'acide salicylique. Les auteurs ont reconnu que cette réaction est provoquée par de petits microbes en forme de bâtonnets qui paraissent d'espèces différentes en rapport avec une intensité d'action réductive également variable.

Enfin MM. Dehérain et Maquenne ont observé une nouvelle réduction des nitrates qui s'arrête à la phase de protoxyde d'azote, et qu'ils attribuent également à un ferment spécial, en se basant sur la nécessité de la présence dans le liquide d'éléments organiques, et sur l'arrêt du phénomène sous l'influence de la chaleur ou du chloroforme.

En résumé, certains ferments spéciaux, d'espèces et par suite d'activité variables, opèrent dans la nature la dénitrification partielle des nitrates, en donnant comme produits de réduction, tantôt des nitrites, tantôt du protoxyde d'azote, et d'autrefois de l'azote libre ; il se forme en outre de l'ammoniaque, ainsi que l'ont démontré MM. Boussingault et Schlœsing.

CHAPITRE IX

FERMENTATIONS PAR OXYDATION

§ *I. — Fermentation acétique*

L'alcool C^2H^6O, soumis à l'action d'agents oxydants, donne naissance à deux produits complètement différents, dont l'un, l'aldéhyde acétique C^2H^4O, résulte de l'action de réactifs peu énergiques (bichromate de potasse et acide sulfurique) et constitue un premier degré d'oxydation, tandis que l'autre, l'acide acétique $C^2H^4O^2$, est un terme d'oxydation plus avancée, ainsi que le montrent les formules suivantes :

$$\underset{\text{Ac. acétiq.}}{C^2H^6O} + O = \underset{\text{Aldéhyde.}}{C^2H^4O} + H^2O$$

$$C^2H^6O + O^2 = \underset{\text{Ac. acétique}}{C^2H^4O^2} + H^2O$$

Le premier terme, l'aldéhyde, est très instable ; et le contact de l'oxygène de l'air suffit pour la transformer en acide acétique :

$$C^2H^4O + O = C^2H^4O^2$$

L'acide acétique se conserve, au contraire, indéfiniment, et sans précaution spéciale ; on peut d'ailleurs l'obtenir en abandonnant de l'alcool au contact de l'air et de la mousse de platin ; celle-ci porte sur l'alcool l'oxygène qu'elle condense et détermine son acétification.

Des phénomènes du même genre, connus depuis un temps immémorial, se produisent quand on abandonne à l'air des liquides alcooliques, tels que le vin, la bière ; mais cette fois l'acidification est déterminée par un organisme qui vient de l'extérieur, se développe à la surface du liquide, et constitue la *fleur de vinaigre ;* cette transformation de l'alcool dilué sous l'influence d'un cryptogame spécial, le *mycoderma aceti* (ulvina aceti de Kützing) appelé encore *mère du vinaigre*, constitue la fermentation acétique.

1. — *Ferment acétique.* Le *Mycoderma aceti* est une bactérie (fig. 32) décrite par M. Pasteur comme formant des chapelets composés d'articles ordinairement étranglés en leur milieu, dont le

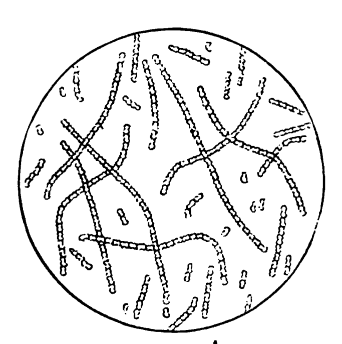


Fig. 32. — Mycoderma aceti.

diamètre moyen est de 1μ,5, la longueur étant d'un peu plus du double ; l'étranglement médian donne, à chaque élément, l'aspect de deux globules

accolés, de sorte que les chapelets paraissent formés d'une chaîne de globules; cette apparence est surtout accusée dans les préparations de ferment âgé. Il se multiplie par allongement de chacune des moitiés, et segmentation transversale, en donnant naissance à des chapelets enchevêtrés dans tous les sens, qui forment, à la surface du liquide, un voile uniforme d'aspect velouté, très facile à briser en fragments qui ne se laissent que difficilement mouiller; une baguette, plongée dans le liquide, perce le voile et en enlève un fragment qui, porté dans un autre liquide, s'étale encore à la surface et l'ensemence. Le prolifération du mycoderme est si rapide qu'une quantité imperceptible ainsi ensemencée à la surface d'un liquide nouveau, en couvre un mètre carré en vingt-quatre heures.

Le ferment acétique se présente sous deux aspects différents; ensemencé à la surface d'un liquide alcoolique neuf, il se développe en chapelets rayonnés, formés d'articles bien nets, dont l'agglomération donne naissance à l'aspect velouté que nous venons de décrire; c'est la forme *membraneuse*, qui, après une culture prolongée dans un milieu acétique, passe à l'état de masse gélatiniforme, tremblotante, épaisse, forme *mucilagineuse*, capable d'envahir le milieu tout entier, et constituée par de vieux articles. Le ferment acquiert alors en poids, comme en volume, un développement beaucoup plus considérable que sous la première forme; cette espèce de peau gélatineuse, devenue trop lourde, tombe au fond du liquide, est remplacée par une autre de nouvelle formation, et ainsi de suite. Les articles âgés de la forme mucilagineuse y sont réunis par un mucus translucide; ces plaques mucilagineuses se transforment, par la dessication, en une pellicule translucide, très résistante.

La modification mucilagineuse du voile du mycoderme se produit souvent dans les flacons des phar-

maciens, et dans les vinaigreries mal conduites; l'acétification ne se produit plus régulièrement; les appareils s'engorgent et il faut prendre un liquide neuf qu'on ensemence avec un fragment de la première forme.

Autres mycodermes acétiques. — Le mycoderma aceti, que nous venons de décrire, n'est pas le seul agent organisé de la fermentation de l'alcool, et, suivant M. Duclaux, il en existe probablement autant d'espèces que d'espèces de levure; l'auteur cité en a, en effet, observé deux autres ; l'un, agent d'acétification très actif, formant un voile plus sec, plus fin que le précédent, voile qui donne quelquefois les couleurs des lames minces, et qui se recouvre d'ondulations croisées dont la disposition rappelle la surface d'un gâteau de miel : l'autre donnant des voiles bien développés, mais doué d'un pouvoir acétifiant presque nul. D'autres encore ont été étudiés par MM. Mayer, Wurm, Boutroux.

2. *Nutrition du ferment acétique, culture, origine.* — On se procure avec la plus grande facilité le mycoderma aceti, en exposant, au contact de l'air, un liquide alcoolique et acide, au titre approché de 1,5 à 2 pour 100 d'acide acétique de 2 à 4 pour 100 d'alcool, et pauvre en éléments organiques; c'est ainsi que le ferment acétique se développe de préférence à tout autre, et rapidement, sur les mélanges suivants : 1° vin rouge ou blanc 1 volume, eau 2 volumes, vinaigre 1 volume ; 2° bière, eau, vinaigre, volumes égaux de chaque ; 3° solution filtrée de levûre additionnée de 3 à 4 pour 100 d'alcool et de 1 à 2 d'acide acétique (formule de M. Pasteur).

L'alcool est l'aliment hydrocarboné par excellence du mycoderma aceti, l'acide acétique ne paraissant intervenir que par la réaction qu'il donne au liquide, du moins en présence de l'alcool; car nous verrons qu'il est comburé à son tour quand l'alcool a disparu. Mais il faut encore au ferment des éléments

minéraux et azotés; ces derniers pourront être également minéraux, ce qui montre bien le rôle négatif, dans l'oxydation de l'alcool, des matières organiques contenues dans les liquides sur lesquels le mycoderme se développe d'ordinaire; il se développe très bien, après ensemencement, sur un liquide ne contenant, outre l'alcool et l'acide acétique cristallisable, que des phosphates d'ammonium, de chaux, de magnésium et de potassium. Cependant le voile est moins épais, plus délicat, la plante a moins de vigueur que quand elle peut se nourrir de matières albuminoïdes, et la formule de M. Pasteur, donnée précédemment, fournit un liquide qui se prête très bien à la culture du ferment doué de son maximum d'énergie et de vitalité.

Le sucre peut également être acétifié par la mère du vinaigre, et cela sans passer d'abord à l'état d'alcool (Blondeau).

Le germe initial, point de départ de la fermentation acétique, se trouve, soit dans le vinaigre ajouté au liquide, soit dans les poussières de l'atmosphère; très souvent il est apporté par la mouche du vinaigre (*Musca cellaris L.*) qui apparaît très rapidement sur les liquides à odeur acétique abandonnés à l'air dans une étuve, et qui emporte partout, avec elle, attachés à ses pattes, les germes qu'elle a pris sur les liquides vinaigrés.

3. *Produit de la fermentation acétique.* — Le liquide de Pasteur, abandonné à l'air, se recouvre donc rapidement d'une pellicule de ferment qui détermine l'oxydation de l'alcool. Au début, l'action est incomplète et donne d'abord de l'aldéhyde, laquelle, dans une seconde phase et sous l'influence de l'oxygène que lui cède le mycoderme, se transforme en acide acétique; les formules de la page 213 rendent compte de ces réactions successives. En même temps que l'acide acétique, prennent naissance, dès l'origine, des produits éthérés à odeur agréable qui viennent par-

fumer le produit (éther acétique, et homologues).

Mais quand l'alcool est devenu rare ou a disparu, l'action du ferment se porte d'abord sur les éthers parfums, puis sur l'acide acétique qui disparaît à son tour, brûlé complètement et réduit en éléments minéraux eau et acide carbonique :

$$C^2H^4O^2 + 2O^2 = 2CO^2 + 2H^2O$$

Cette action nouvelle se manifeste par un dégagement gazeux que ne produit pas la fermentation acétique primitive, et par la diminution progressive de l'acidité du liquide. Vient-on maintenant à rajouter un peu d'alcool, l'acide n'est plus attaqué, et le ferment reprend son rôle acétifiant.

Cette curieuse action du mycoderme acétique a une grande importance pratique pour les vinaigriers qui, pour obtenir le maximum du rendement, doivent éviter que le liquide de leurs cuves s'épuise complètement en alcool.

4. *Altération de structure et de fonction du mycoderme.* — Quelquefois le ferment, au lieu de donner de l'acide acétique, transforme l'alcool en produits irritants qui déterminent le larmoiement et la suffocation; ces composés, parmi lesquels prédomine l'aldéhyde, paraissent les mêmes que ceux que donne le noir de platine, dans certains cas; ils ne manquent jamais, d'ailleurs, même dans les falsications les mieux conduites, de sorte qu'en pénétrant dans une vinaigrerie, outre l'action irritante, sur le nez et la gorge, de l'acide acétique, on éprouve plus ou moins de larmoiement. Cette variation dans le fonctionnement du mycoderme correspond à une altération dans sa constitution morphologique; le voile qu'il forme est devenu opaque, blafard, moins consistant; il se détache facilement des bords du vase et tombe en lambeaux au fond du liquide. Le microscope montre des articles crispés, fanés et parsemés

çà et là de globules graisseux qui sont peut-être des produits de régression et d'exsudation.

Ces altérations peuvent être déterminées à volonté, en ajoutant au liquide en fermentation de l'alcool concentré qui s'étale à la surface, ou quelques gouttes d'un corps nuisible au mycoderme, tel que l'alcool méthylique ou esprit de bois et l'alcool amylique.

Une conséquence nouvelle de ces faits, pour l'industrie du vinaigre, consiste à n'ajouter au liquide en fermentation que de l'alcool étendu, et dans certain procédé, à n'introduire cet alcool que par la partie inférieure du liquide.

5. *Mode d'action du mycoderma aceti.* — La fabrication du vinaigre à l'aide de copeaux de hêtre était connue depuis longtemps déjà, lorsque, en 1821, Davy obtint la transformation de l'alcool en acide acétique sous l'influence de la mousse de platine, et attribua aux copeaux de hêtre une action analogue à celle du platine; cette opinion se trouvant en désaccord avec le procédé des vinaigriers français, dit d'Orléans, dans lequel on n'emploie pas de copeaux, mais où l'on dépose de la *mère de vinaigre* à la surface des liquides préparés pour l'acétification, Liebig vint dire que la production de l'acide acétique, dans les deux procédés, était due à un mouvement d'oxydation communiqué par des principes organiques concomitants, en voie de décomposition : « Les matières organiques, mortes ou vivantes, au contact de l'al-
» cool du vin, possèdent, après avoir absorbé de
» l'oxygène, la propriété d'oxyder à la température
» ordinaire d'autres substances organiques ou non. »
Tel était l'état de la question, lorsque Pasteur démontra expérimentalement que la cause première de la fermentation est un mycoderme.

A la surface d'un liquide organique contenant surtout des phosphates et des éléments organiques azotés, et abandonné à l'air, il laisse se développer spontanément un voile complet d'un mycoderme quel-

conque, puis syphonne le liquide nutritif qu'il remplace par une solution aqueuse d'alcool à 10 pour 100; sous l'influence de ce changement dans les conditions habituelles de nutrition de la plante, celle-ci, par la réaction réciproque de l'oxygène de l'air et de l'alcool, détermine l'acétification du liquide; cette transformation est très active jusqu'au moment où le milieu devient très acide; elle se ralentit alors, s'arrête même, mais reprend son activité initiale dès qu'on remplace le liquide acide par de nouvelle eau alcoolisée. Mais en vieillissant, le mycoderme acétique cède au milieu ambiant les éléments de déchets de ses tissus, et lui communique des propriétés nutritives pour d'autres espèces cryptogamiques; à partir de ce moment, l'acide et l'alcool disparaissent à la fois, et le liquide devient neutre; cette combustion complète s'observe quand on ensemence les mycodermes sur des liquides alcooliques riches en éléments nutritifs, tel que le vin, la bière et autres boissons fermentées diverses; mais si la plante se trouve placée dans un état pathologique tel que son développement soit rendu pénible et incomplet, par exemple, dans un liquide ne renfermant plus d'éléments nutritifs organiques, l'oxydation s'arrête à la phase de l'acide acétique.

En résumé, quand le mycoderme trouve des aliments convenables et abondants dans le liquide alcoolique, il puise dans ces élements un maximum de vitalité à laquelle il doit de comburer complètement l'alcool et l'acide acétique en les réduisant dans les mêmes éléments minéraux que la combustion au rouge; vient-on, au contraire, à diminuer cette vitalité par la soustraction des aliments ou de toute autre façon, l'action du ferment s'arrête à la production d'acide acétique.

Les copeaux de hêtre n'agissent pas en vertu de leur porosité, comme le voulait Davy, mais par la mince couche de ferment qui les recouvre (Pasteur,

Mayer et Knierym) ; on doit convenir cependant qu'en multipliant les contacts avec l'oxygène de l'air, ils favorisent puissamment l'action du mycoderme. Afin de prouver que le contact multiplié avec l'air n'est pas la cause déterminante du phénomène, M. Pasteur laisse couler, le long d'une corde, de l'alcool étendu d'eau, de façon à donner une goutte seulement au bout de la corde par 2 à 3 minutes ; après un mois de fonctionnement, il ne s'est pas formé la plus petite quantité d'acide acétique; mais si l'on trempe au préalable la corde dans un liquide recouvert d'un voile mycodermique dont une partie reste sur elle, et qu'on recommence l'expérience, l'alcool qui s'écoule goutte à goutte est devenu acide, et l'acétification peut se prolonger pendant des semaines.

M. Mayer corrobore ces résultats de la façon suivante; il couche à la surface d'une solution alcoolique faible une feuille de papier bouillie dans de l'acide chlorhydrique à 5 pour 100, puis dans une solution de potasse caustique au même titre, et enfin lavée soigneusement à l'eau; après un mois d'exposition, le liquide ne renferme pas la moindre trace d'acide acétique. L'auteur fait ensuite écouler lentement de l'alcool à 9 pour 100 à travers un entonnoir garni de ce papier et rempli de poudre de verre; il obtient encore un résultat négatif.

C'est donc bien le mycoderme qui produit l'acétification et par le mécanisme suivant : sous la forme d'une couche superficielle, il absorbe l'oxygène de l'air ambiant et le porte sur l'alcool, déterminant ainsi une réaction quelquefois très énergique, comme le prouve le dégagement abondant de vapeur d'eau dont elle s'accompagne. La production de chaleur est appréciable à la main et, dans les vinaigreries, suffit souvent, surtout en été, pour maintenir le liquide en fermentation à un degré convenable ; quelquefois même elle s'élève assez pour tuer le ferment.

Mais si le mécanisme du phénomène est simple, il n'en est plus de même de l'explication; M. Pasteur n'a pas creusé plus profondément le problème, et n'a pas cherché quelle est, dans son essence intime, le mode d'action du mycoderme; il se contente d'admettre que le « *mycoderma aceti* a la propriété de » condenser l'oxygène à la façon même du noir de » platine ou des globules de sang, et de porter cet » oxygène sur les matières sous-jacentes »; en d'autres termes, il reprend la théorie de Liebig, mais en réservant l'action oxydante non plus à des matières organiques inertes, mais à des organismes vivants; d'ailleurs l'oxygène des globules sanguins n'est pas condensé physiquement, mais combiné avec l'hémoglobine, et n'a pas plus d'énergie oxydante que l'oxygène ordinaire simplement dissous.

M. Mayer a démontré que l'action du mycoderme est de nature physiologique, qu'elle constitue un phénomène biologique spécial, indépendant de l'état physique de la plante; il suffit en effet de chauffer un liquide alcoolique couvert du voile mycodermique, et en pleine marche d'acétification, pour arrêter l'oxydation; et cependant l'état physique n'a pas été sensiblement modifié. Il existe de plus une différence notable entre l'action de la mousse de platine, qui est maximum à 35°, et celle du mycoderma aceti, dont l'activité est maximum entre 20 et 30°, et devient nulle au-dessous de 10° et au-dessus de 35°; en outre, on peut, avec le platine, oxyder de l'alcool concentré dont la transformation est même plus rapide que s'il est étendu, tandis que le mycoderme ne peut se développer et manifester son action que dans un liquide contenant au plus 10 pour 100 d'alcool.

Quoiqu'il en soit de la théorie, l'activité du mycoderme est considérable, bien que le poids des voiles qu'il forme, à l'état sec, soit toujours très faible; ainsi, un voile continu et régulier couvrant une sur-

face d'un mètre carré, ne pesait pas plus de 0 gr. 5 (Duclaux); et cependant le calcul montre que, dans certaine expérience de M. Pasteur, 5 milligr. de mycoderme ont consommé, en 36 heures, 550 cent. cubes d'oxygène, soit 0 gr. 825 de gaz; la plante a donc servi de véhicule, pendant ce temps, à 165 fois son poids d'oxygène, et encore ne serait-ce qu'un minimum, plus considérable que le chiffre correspondant à la levûre aérobie qui est cependant lui-même très élevé.

6. *Condition de l'action du mycoderma aceti.* — Comme tous les autres ferments, le mycoderma aceti exige, pour manifester son action, certaines conditions de milieu qui doivent être observées avec le plus grand soin.

Au point de vue de la quantité, il est évident, à priori, que, plus la quantité de ferment ensemencé dans un liquide convenable sera grande, plus vite se fera l'acétification; cependant la rapidité extrême de multiplication du mycoderme rend inutile l'emploi d'une grande quantité de mère du vinaigre ; rappelons en effet qu'une quantité imperceptible, ensemencée à la surface d'un liquide neuf, en couvre une surface d'un mètre carré en vingt-quatre heures.

La composition de l'*atmosphère gazeuse* a une grande importance, étant donné le rôle primordial que joue l'oxygène dans la fermentation acétique. Le mycoderma étant essentiellement aérobie, ne peut vivre qu'au contact de l'air dont il absorbe l'oxygène; l'aération des liquides est donc nécessaire pour obtenir une acétification rapide ; de là, dans le procédé allemand, l'emploi des copeaux de hêtre sur lesquels on fait couler le liquide en couche très mince.

Nous avons parlé précédemment des *aliments* qui sont nécessaires au ferment, et qu'il trouve d'ordinaire dans les boissons alcooliques consacrées à la fabrication du vinaigre. Rappelons seulement que,

lorsqu'on opère sur de l'alcool étendu d'eau, on doit acidifier le liquide par l'addition d'une certaine quantité de vinaigre ou d'acide acétique cristallisable, et y introduire environ 1/10,000 d'un mélange de phosphates de magnésie, de potassium, d'ammoniaque et de calcium. Le liquide ne doit pas non plus renfermer plus de 10/100 d'alcool.

L'addition d'acide acétique ou de vinaigre, à l'alcool étendu destiné à faire du vinaigre artificiel, s'explique par la nécessité d'un *milieu acide*, pour le développement du mycoderma aceti; et tandis que cette réaction acide est favorable au ferment acétique, elle nuit au développement des autres espèces de mycodermes, en particulier du *mycoderma vini;* cependant une acidité trop forte est nuisible, et nous avons vu l'action du ferment s'arrêter quand le liquide renfermait une certaine dose maximum d'acide acétique, pour reprendre quand on remplace le vinaigre produit par du liquide alcoolique nouveau.

Nous avons déjà parlé de l'influence de la *température* sur le mycoderme, dont l'activité se manifeste entre les limites extrêmes de 10° à 33°, avec un maximum correspondant à 24°-28° ; au-dessus de 42° à 43° le ferment est tué.

Les *agents antiseptiques* qui arrêtent l'action de la levûre de bière agissent dans le même sens sur le mycoderma aceti ; l'acide sulfureux est surtout actif. De là vient la pratique de conserver le vin, pour en empêcher l'acétification, dans des tonneaux où l'on a brûlé des mèches soufrées. Le même procédé réussit également très bien à arrêter au début l'altération d'un vin qui commence à se piquer ; transvasé dans un tonneau fortement soufré et exactement rempli, il perd peu à peu la saveur un peu vinaigrée qu'il avait contractée par suite d'un commencement de fermentation acétique, l'acide d'abord produit se transformant, au contact de l'alcool, en éther acétique

ou acétate d'éthyle qui ajoute sa saveur agréable au bouquet initial du vin.

Le même résultat a d'ailleurs pu être obtenu par une simple mise en bouteille après collage du vin piqué (Garnier).

§. 2. — *Mycoderma vini.*

Le *mycoderma vini*, dont nous avons déjà parlé (p. 79 et 218), se développe également à la surface des liquides alcooliques sous forme de membranes minces, mais cependant plus épaisses et plus résistantes que celle du mycoderma aceti ; il choisit de préférence les liquides peu ou point acides, le vin par exemple, et oxyde encore l'alcool, mais en le brûlant complètement et le transformant en eau et acide carbonique :

$$C^2H^6O + 3\,O^2 = 2\,CO^2 + 3\,H^2O$$

C'est à cette action que doit être attribuée la diminution de force alcoolique et la saveur plate que prennent les vins en vidange, dans un tonneau mal bouché.



Fig. 33. Mycoderma vini.

Ce mycoderme se nourrit aussi d'alcool, de sels minéraux et d'éléments azotés. La saveur plate con-

tractée sous son influence par les vins peut être attribuée, au moins en partie, à la disparition de l'acide succinique et de la glycérine.

Jeune, le mycoderma vini est formé de globules ovales et turgescents (fig. 33) portant d'ordinaire une ou deux vacuoles à contours assez nets ; vieux, il s'allonge beaucoup et se rétrécit en prenant quelquefois des formes anguleuses et bizarres.

La quantité d'oxygène qu'il utilise, pour oxyder l'alcool, est si grande, et lui communique une activité vitale si énergique, que les cultures recouvertes d'une plaque de verre déposent sur celle-ci de grosses gouttes d'eau volatilisées par suite de la production notable de chaleur, et qu'on ne voit jamais apparaître, à la surface du voile qu'il forme, aucune autre moisissure, bien que l'air y apporte constamment des germes étrangers.

Le mycoderma vini oxyde également l'acide acétique ; mais le milieu acide étant moins favorable à son développement, la combustion est bien moins active que celle de l'alcool.

Laissé à la surface d'une solution alcoolique privée de phosphates et de matières azotées, il devient languissant et fait place au ferment acétique, qui finit par l'étouffer quand l'acidité du liquide est devenue assez forte, d'autant plus que ce dernier trouve, dans les débris du mycoderma vini, les matériaux nutritifs qui lui sont nécessaires. C'est précisément pour éviter le développement du mycoderma vini et les pertes qui en résultent dans leurs opérations, que les vinaigriers acidulent franchement les liquides qu'ils veulent acétifier.

La détérioration que le mycoderma fait éprouver au vin en vidange peut être évitée, en grande partie tout au moins, de la manière suivante. Au moment de la mise en perce des pièces de vin, aussitôt qu'on a pratiqué à travers la bonde le trou nécessaire à la rentrée de l'air, on munit le trou d'un petit cône en

fer-blanc mastiqué sur la bonde, et dans lequel on tasse un peu de coton flambé dans la flamme d'une lampe à alcool (fig. 34 et 35) ; ce tampon de coton

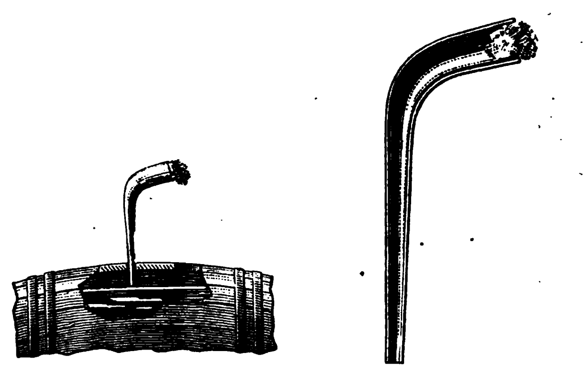


Fig. 34 et 35. Fausset à coton grillé, de Houdart, pour le tirage et la mise en bouteilles des vins et autres liquides fermentescibles.

agit ultérieurement comme un filtre à l'égard des poussières atmosphériques, et retient les germes mycodermiques qui ne peuvent plus dès lors arriver au contact du liquide.

§. 3. — *Fabrication du vinaigre.*

D'après son étymologie, le vinaigre doit être du vin aigri par la fermentation acétique ; aujourd'hui que le vin a pris une valeur commerciale très grande, par suite de la destruction des vignes françaises par le phylloxéra et autres parasites, la fabrication du vinaigre de vin est devenue l'exception, et l'on consacre à cet usage toute espèce de liquides alcooliques, bières aigres, cidres, poiré, et la majeure partie des produits de la vinaigrerie est obtenue en partant des

trois-six du Nord, c'est-à-dire des alcools d'industrie dont nous allons voir le mode d'emploi.

Les procédés de fabrication du vinaigre sont au nombre de trois principaux :

1° Procédé d'Orléans, qui donne le vinaigre de vin le plus parfumé,

2° Le procédé allemand, dit de Schutzenbach,

3° Le procédé de M. Pasteur.

1. *Procédé d'Orléans.* — On utilise, dans ce procédé, les pratiques indiquées par Chaptal, au commencement du siècle, et qui n'ont subi, depuis, que des modifications sans importance.

Dans un cellier où l'on maintient, à l'aide de poêles, une température de 25 à 30°, on dispose horizontalement des rangées de tonneaux de 200 à 400 litres appelés *mères*, et percés à la partie supérieure et antérieure de chaque fût, d'un trou de 55 millimètres de diamètre qui reste toujours ouvert pour la rentrée de l'air. On les remplit au tiers de vinaigre fort et bouillant ou, plus simplement, de vinaigre ordinaire aussi fort et aussi limpide que possible ; on y ajoute 11 ou 12 litres de vin, puis on y introduit, au moyen d'une spatule de porcelaine mouillée, un peu de semence prise sur une mère qui marche bien ; on laisse reposer huit jours, puis on ajoute quotidiennement dix litres de vin jusqu'à ce que le tonneau soit presque plein ; on abandonne ensuite la fermentation à elle-même pendant 5 jours. On soutire alors, à l'aide d'un siphon, la moitié du liquide qui est transformé en vinaigre, puis on recommence les additions de vin de façon à obtenir ainsi une marche régulière et continue. « Pour juger » si la mère travaille, les vinaigriers sont dans l'u- » sage de plonger une douve dans le vinaigre et de » la retirer aussitôt. Ils voient que la fermentation » marche et est en grande activité, quand le sommet » mouillé de la douve présente de l'écume ou fleur » de vinaigre, et ils y ajoutent plus ou moins de vin

» nouveau et à des intervalles plus ou moins rap-
» prochés, selon que l'écume est plus ou moins con-
» sidérable ».

Les soutirages à intervalles convenables et l'addition consécutive de nouveau vin ont l'avantage de ne jamais laisser le liquide se dépouiller complètement d'alcool, et par suite d'empêcher la combustion, par le ferment, des éthers parfums qui prennent naissance par la réaction de l'acide acétique sur l'alcool du vin et ses homologues.

Aussi le procédé d'Orléans donne-t-il les vinaigres les plus parfumés; il est vrai qu'à côté de l'acide acétique qui s'y trouve dans la proprotion de 37 à 50 grammes par litre, ils contiennent encore de 3 à 5 degrés et plus d'alcool.

Lorsque, en introduisant la main par le trou d'air et tâtant la paroi interne du fond du tonneau au niveau du liquide, le vinaigrier perçoit l'existence d'une couche glaireuse, gélatiniforme, qui fuit sous le doigt, il dit que la fermentation marche bien. C'est que, en effet, cette couche est formée par des ***anguillules*** qui pullulent dans les tonneaux d'Orléans, anguillules très avides d'oxygène, et qui, séparées de l'air extérieur par la couche active de mycoderme, viennent se réunir sur les bords de cette couche, c'est-à-dire sur les parois du tonneau au niveau supérieur du liquide, où, trouvant le gaz qui leur est nécessaire, elles forment une couche animée, humide, blanche, épaisse de plus de un millimètre et haute de plusieurs centimètres.

Il semble résulter des expériences de M. Pasteur que quelquefois ces anguillules s'insurgent contre le voile mycodermique qui les prive d'oxygène; elles le battent en brèche, le perforent, le divisent en fragments qu'ils précipitent au fond du liquide, sous la forme d'un précipité opaque et pulvérulent, comme si elles avaient séparé la matière mucilagineuse qui réunissait les globules. En pareil cas, on

dit, dans la vinaigrerie, que le tonneau ne *marche* pas, qu'il est *malade* ou *tourné*, et pour utiliser le liquide, il faut le porter à l'ébullition pour tuer les anguillules.

En résumé, la pratique du procédé d'Orléans est telle qu'elle exige peu de manipulations, qu'elle donne un vinaigre très parfumé, enfin que les pertes de l'alcool par évaporation sont à peu près nulles; mais en revanche, l'acétification est toujours assez lente ; aussi n'obtient-on, dans les meilleures conditions, que 12 à 15 litres de vinaigre par semaine, par chaque 50 litres en œuvre.

2. *Procédé de Schützenbach.* — Le procédé allemand, tel qu'il a été décrit par Schützenbach en 1823, n'a également subi, depuis cette époque, que des modifications secondaires.

On se sert de grandes cuves en chêne de 1 mètre de diamètre et de 2m 50 à 3 mètres de hauteur, dans la partie occupée par les copeaux de hêtre ; au-dessus se trouve un compartiment fermé par un couvercle, dans lequel on introduit le liquide alcoolique qui s'écoule à travers les ouvertures percées dans le faux-fond et à moitié fermées par des paquets noués de ficelles, de façon à multiplier la division du liquide : des trous plus grands servent au renouvellement de l'air desoxydé ; au dessous des copeaux, un second compartiment étanche reçoit le liquide qui a passé sur les copeaux. L'atmosphère de la salle est maintenue à 21°.

Des ouvertures placées en cercle à la partie inférieure de la cuve, au-dessus du faux fond percé à jour placé au-dessus des copeaux, et inclinées de dehors en dedans, pour ne pas perdre de liquide, laissent entrer l'air qui monte à travers l'appareil et sort par des tubes fixés sur les gros trous du fond du compartiment supérieur ; cette circulation d'air ascendant est accélérée, et quelquefois rendue trop rapide, par l'élévation de la température intérieure

sur laquelle on est renseigné par un thermomètre qui pénètre à travers la paroi latérale de la cuve. On la modère en fermant les tubes supérieurs.

On verse d'abord, dans le compartiment supérieur, du vinaigre chaud qui imprègne les copeaux de hêtre et y dépose des fragments de mère, puis les liquides alcooliques (à 4, 5 ou 6 o/o d'alcool), chauffés au préalable entre 26 et 27 degrés; l'acétification commence et se poursuit rapidement, et la température s'élève spontanément dans les cuves de 38 à 42 degrés, quelquefois plus; aussi faut-il la surveiller soigneusement, et ralentir au besoin le courant d'air et par suite les oxydations, en fermant une partie des tubes supérieurs. Le liquide alcoolique n'est pas complètement acétifié dans un seul passage à travers la cuve; on le fait repasser une ou deux fois dans la même cuve ou dans des cuves voisines et le vinaigre est fait.

Ce procédé a des avantages nombreux, mais aussi des inconvénients :

L'acétification est très rapide, et chaque cuve de 2 m. 50 transforme, en 24 heures, de 2 litres 75 à 3 litres 20 d'alcool absolu, ce qui correspond à 1 hectolitre de vin à 9 degrés transformé en vinaigre en trois jours. On peut employer des mélanges d'alcool et d'eau à peu près purs, ce que ne permettrait pas le procédé d'Orléans.

En revanche, la mise en marche normale d'une cuve neuve est très longue (six à huit semaines), et exige une dépense de 5 à 6 hectolitres de vinaigre ; les premiers produits ont une odeur et une saveur de bois très prononcée provenant des copeaux de hêtre ; le fonctionnement des cuves montées doit être continu ; enfin il se produit des pertes en alcool qui est entraîné par le courant d'air à l'état de vapeurs engendrées par la température élevée que provoque la réaction, ou brûlé complètement par le mycoderme, pertes qui peuvent atteindre jusqu'à 20 à 25 o/o, mais qu'une

bonne fabrication peut cependant réduire à 6 ou 8 o/o.

Malgré ces désavantages que compensent jusqu'à un certain point la rapidité de l'opération et l'emploi de l'alcool dilué, le procédé allemand est très employé, non seulement en Allemagne, mais encore en France.

Nous ne parlerons pas du procédé luxembourgeois, procédé mixte, qui a la prétention d'avoir pris aux deux procédés que nous venons de décrire, ce qu'ils ont de bon.

3. *Procédé de M. Pasteur.* — Dans son procédé, M. Pasteur a mis à profit les résultats de ses recherches sur le mycoderma aceti.

Il se sert de larges cuves en bois, rondes ou quadrangulaires, peu profondes et munies de couvercles; deux petites ouvertures sont pratiquées aux extrémités d'un diamètre du couvercle pour laisser rentrer l'air. Deux tubes en gutta-percha, percés de petits trous latéraux et plongeant jusqu'au fond des cuves, permettent l'introduction des liquides alcooliques sans toucher au couvercle ni, par suite, au voile mycodermique; un thermomètre, dont la boule plonge dans le liquide, permet de suivre la marche de l'opération.

Le liquide alcoolique est un mélange de 2 o/o d'alcool et de 1 o/o de vinaigre, auquel on ajoute 1/10.000 d'un mélange de phosphates de chaux, de magnésie, de potasse et d'ammoniaque; cette addition n'est pas nécessaire quand on emploie le vin, la bière ou des boissons alcooliques analogues. Ce liquide est introduit dans les cuves sous une épaisseur de 20 à 25 centimètres environ et ensemencé avec un peu de mycoderma aceti; lorsque la fermentation est bien en train, on ajoute chaque jour de petites quantités de vin, ou d'alcool mélangé à de la bière; l'action se ralentissant, on laisse la fermentation s'achever à peu près complètement, on soutire

le vinaigre, puis on recueille et on lave le mycoderma qui servira à l'ensemencement du liquide neuf dont on rechargera l'appareil. La marche des cuves est convenable quand le voile mycodermique se plisse et creuse des sillons comme s'il n'avait pas assez de place pour s'étendre ; dans ces conditions, l'acétification est de sept à dix fois plus rapide que par le procédé orléanais.

Une cuve de un mètre de section et de 50 à 100 litres de capacité peut fournir par jour de 5 à 6 litres de vinaigre.

Il faut avoir soin de ne jamais laisser le liquide manquer d'alcool, pour ne pas détruire le parfum du vinaigre et brûler de l'acide acétique ; pour la même raison, il ne faut pas laisser le mycoderma prendre un trop grand développement.

Dans ce procédé, les pertes par évaporation ou combustion de l'alcool ne sont pas plus fortes que dans le procédé d'Orléans, et l'on obtient un produit de qualité au moins égale.

Comme il est beaucoup plus rapide, n'exige qu'un outillage des plus simples, une manipulation restreinte et convient parfaitement à une fabrication intermittente, on voit les avantages qu'il présente sur le procédé allemand.

Ajoutons qu'il ne donne pas lieu au développement des anguillules qui pullulent dans les tonneaux d'Orléans et dont nous avons vu les inconvénients.

Des dispositions spéciales d'ailleurs très simples permettent, si l'on veut, de continuer la fermentation dans la même cuve, en remplaçant le vinaigre soutiré par du liquide alcoolique nouveau sans toucher à la mère superficielle.

Tout le monde connaît le tonnelet à vinaigre en grès que l'on trouve sous le manteau de la cheminée de la cuisine dans les campagnes ; dans cet appareil, l'acétification du vin se produit à peu près comme dans le procédé d'Orléans ; mais on a malheureuse-

ment l'habitude de puiser à même au tonnelet pour les provisions journalières de vinaigre, qui reste ainsi trop longtemps au contact de la mère, et par suite perd de son parfum et de sa force ; on devrait encore soutirer à peu près complètement le liquide et le conserver en bouteilles, quand la fermentation est à peu près achevée, et comme dans le procédé de Pasteur, retirer la mère, la laver et n'en mettre qu'un fragment dans le nouveau liquide. Cette mère peut se conserver assez longtemps dans un flacon fermé et à demi plein de bon vinaigre, pour servir à des ensemencements ultérieurs.

§ 4. — *Fermentation nitrique.*

L'ammoniaque qui prend naissance dans le sol par suite de la décomposition des matières organiques azotées par certains ferments analogues à celui qui hydrate l'urée, augmentée de celle que la pluie enlève à l'atmosphère, se transforme assez rapidement, dans les terrains perméables à l'air, en dérivés oxygénés de l'azote, nitrites et surtout nitrates, et cela sous l'influence d'organismes microscopiques spéciaux qui font, du phénomène, une véritable fermentation par oxydation, la fermentation nitrique.

Certaines conditions du phénomène avaient été bien étudiées ; Kuhlmann ayant réussi à produire de l'acide azotique en faisant passer un mélange de gaz ammoniac et d'air sur de la mousse de platine chauffée à 300°, et dans la nature, les matières organiques fournissant de l'ammoniaque, et l'air se trouvant partout, même dans le sol, on admit que la terre joue, dans la nitrification naturelle, le rôle de corps poreux comme la mousse de platine dans l'expérience citée.

Telle fut, et telle était encore en 1877, la première théorie de la nitrification, lorsque M. Pasteur,

apportant à l'étude du phénomène sa longue expérience et sa puissante conception, signala, en 1862, l'analogie qui existe entre l'acétification et la production de l'acide nitrique aux dépens de l'ammoniaque, et émit le premier l'hypothèse que les deux réactions devaient être de même ordre, et que la seconde était probablement due, aussi bien que la première, à l'action d'un ferment organisé.

Cette idée, exploitée par MM. Schlœsing et Müntz, leur permit, après de longues et ingénieuses recherches, de faire rentrer la nitrification dans le cadre de plus en plus vaste des phénomènes de fermentation.

Un certain nombre de leurs résultats, que nous allons résumer, ont été corroborés par les travaux de M. Warington.

1. *Culture du ferment nitrificateur ; caractères et origine.* — MM. Schlœsing et Müntz ensemencent avec du terreau de l'eau d'égout filtrée et stérilisée à 110°, et placée sous une très faible épaisseur dans un matras à large surface et convenablement aéré ; la fermentation nitrique s'étant déclarée, on transporte une goutte du liquide dans une nouvelle quantité d'eau stérilisée ; en répétant l'opération plusieurs fois, on finit par obtenir une culture pure, dans laquelle le microscope ne révèle que le seul ferment nitrique.

Ce ferment se présente sous la forme de petites cellules brillantes, punctiformes, plus longues que larges, mais ni rondes ni ovales ; les dimensions sont des plus variables, même dans une seule préparation ; leurs contours sont fins et nets, le contenu est homogène, et elles ressemblent beaucoup au mycoderma aceti et au ferment lactique jeune ; mais elles sont plus petites et très peu réfringentes, ce qui les rend quelquefois difficiles à distinguer dans le liquide de culture.

Elles paraissent se multiplier par bourgeonnement.

Ce ferment existe en abondance dans la terre végétale, surtout dans les terrains riches en nitrates ; on le trouve en général dans les eaux qui contiennent des matières organiques, les eaux d'égout par exemple ; il paraît s'attacher à la surface des corps solides ; aussi est-il assez rare dans les eaux courantes et abondant dans la vase de fond. MM. Schlœsing et Müntz ne l'ont jamais rencontré dans l'air ; ils n'ont pu ensemencer l'eau d'égoût stérilisée en y introduisant la poussière de plusieurs mètres cubes d'air ; cette absence du ferment dans l'air est probablement attribuable à la dessication qui le tue.

2. *Substances fermentescibles et aliments du ferment.* — L'aliment essentiel du ferment nitrique est l'ammoniaque ou ses sels, sur lesquels il porte l'oxygène pour la transformer en produits azotés oxygénés ; il paraît cependant devoir agir encore sur les dérivés azotés de la décomposition vitale ou *post mortem* des matières organiques, dérivés que l'on réunit sous le nom de *matières extractives* pour achever leur oxydation et résoudre leurs molécules en acide carbonique et eau, tandis que l'azote devient acide nitrique.

Il peut se développer dans de l'eau contenant, outre le sel ammoniacal destiné à subir l'oxydation, des éléments carbonés, sucre, glycérine, acide tartrique, etc., et minéraux propres à la formation de ses tissus ; cependant un excès de matière organique est nuisible ; elle est attaquée par les ferments spéciaux de la putréfaction qui disputent la place au ferment nitrique dont l'action s'arrête pour reprendre à nouveau quand les matières organiques sont dissociées en leurs produits ultimes de décomposition.

C'est pour cette raison que les nitrières artificielles les plus riches renferment toujours très peu de matières organiques, et que les eaux pauvres en matières azotées, les eaux d'égout par exemple, sont

les plus favorables au développement du ferment.

3. *Produits de fermentation.* — Quand les conditions de la fermentation sont réalisées, milieu nutritif convenable, aération, humidité, porosité, etc., la transformation de l'ammoniaque marche rapidement et aboutit au produit d'oxydation ultime, l'acide nitrique.

Mais si la température est inférieure à 20° et si l'aération est insuffisante, ce qui a lieu tout spécialement pour les milieux liquides, quand ils ne sont pas en couche mince (eaux de puits), la transformation s'arrête à l'acide nitreux, dont M. Chabrier a le premier constaté la présence dans les eaux et quelquefois dans le sol ; ainsi, un liquide de culture qui, ensemencé par le ferment, ne donne que des nitrates sous une épaisseur de 1 à 2 millimètres, sous une épaisseur plus grande, donne des nitrites en abondance.

Un phénomène de même genre se produit quand la richesse en sels ammoniacaux augmente trop, ou quand la température s'élève ; une solution à 8 o/o de chlorhydrate ammonique, ensemencée avec un ferment neuf, donne une fermentation nitrique à 15° ; si la température est plus élevée ou la concentration plus grande, la fermentation devient nitreuse.

Ce résultat assez singulier autoriserait à croire qu'il y a deux phases successives dans l'oxydation de l'azote, la première aboutissant à la période nitreuse, la seconde correspondant à la transformation des azotites en azotates.

Pour résoudre la question, il faudrait rechercher les nitrites dans un liquide en bonne fermentation nitrique, mais contenant encore des sels ammoniacaux pour être certain que la transformation n'est pas complète.

Cette production de nitrites a encore lieu quand on ensemence un liquide neuf avec du ferment pris sur une vieille fermentation, de façon qu'il soit resté

au contact des nitrates pendant plusieurs mois ; y aurait-il là une modification dans la vitalité du ferment, analogue à la diminution de la virulence par les cultures successives (Warington), ou existe-t-il deux ferments, l'un nitreux, l'autre nitrique, le premier persistant seul après un certain temps (Duclaux)?

On voit que la solution de ce problème se rattache à l'étude plus attentive de la phase nitreuse à laquelle nous avons fait allusion précédemment.

4. *Condition de l'activité du ferment.* — Le ferment nitrique étant essentiellement aérobie, son activité sera en relation directe avec la facilité d'aération du milieu en fermentation; elle est en effet bien moindre dans les liquides qui s'aèrent difficilement, à moins qu'ils ne soient sous une très faible épaisseur (1 à 2 millimètres), que dans le sol ; et les terres légères sont les plus favorables à la nitrification, qui peut même s'y effectuer au contact d'un air ne contenant que 1.5 o/o d'oxygène, à cause de la facilité des échanges gazeux.

Si des mucédinées se développent spontanément ou après ensemencement de leurs spores, comme l'ont fait MM. Schlœsing et Müntz, sur les liquides ou à la surface du sol, l'accès de l'air est rendu difficile, quelquefois même impossible, et la transformation nitrique s'arrête ; en revanche, l'azote ammoniacal et l'azote nitrique sont assimilés par le végétal parasite à l'état d'azote organique, et une partie de l'azote peut même se dégager sous forme gazeuse quand se produit la fructication du mycélium. La présence des moisissures dans une nitrière est donc fâcheuse.

La *dessication* du ferment lui est mortelle; du terreau en pleine fermentation nitrique devient stérile après avoir été desséché ; la nitrification dans le sol est à peu près proportionnelle à son humidité, à la condition cependant que la circulation de l'air ne soit pas entravée.

Elle est ralentie d'abord, puis complètement arrêtée quand le sol est noyé sous l'eau.

Le ferment nitrique, comme tous ses congénères, est influencé par les variations de *température* ; il ne commence guère à agir que vers 12°, et atteint son maximum d'activité vers 37° ; puis se manifeste une rapide décroissance qui descend à rien au-delà de 55° ; enfin, la mort arrive entre 90 et 100°, en tout cas à cette dernière température. A 37° la nitrification est dix fois plus active qu'à 14°.

Le milieu doit présenter une réaction légèrement *alcaline* ; dans la nature, c'est le carbonate ou plutôt le bicarbonate de chaux qui joue le rôle d'alcali ; les carbonates alcalins et la chaux hydratée donnent le même résultat, à condition qu'ils ne soient pas à un degré de concentration supérieur à 2 ou 5 pour 1000, sans quoi l'action du ferment se trouve ralentie et peut même être annihilée. L'élément alcalin peut être remplacé par un corps capable d'en engendrer par sa combustion, par exemple, le tartrate de potasse ou de soude.

La lumière a une influence sur la nitrification dont l'intensité est maximum dans l'obscurité ou les lieux faiblement éclairés, tandis qu'elle diminue notablement à la lumière vive (Warington). En tout cas, dans le sol dont la superficie seule est exposée à la lumière, cette influence doit être bien faible, sinon tout à fait nulle.

Les *antiseptiques* impressionnent vivement le ferment nitrique qui est complètement, mais momentanément anesthésié par les vapeurs du chloroforme (Schlœsing et Müntz). Le sulfure de carbone et l'acide phénique à un moindre degré, possèdent la même propriété (Warington).

X

FERMENTATION DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES

Les matières albuminoïdes si répandues dans le règne animal et le règne végétal subissent, sous l'influence des ferments, des décompositions nombreuses et très complexes.

Après la mort, les matières albuminoïdes des tissus se désagrègent et tombent en putréfaction.

Pendant la vie, ces mêmes éléments subissent des transformations dont les unes sont physiologiques et ont pour but la désassimilation des tissus suivant une loi normale, tandis que d'autres ne se produisent qu'à l'état pathologique, suivant des règles inconnues, et donnent des produits de décomposition nouveaux, encore mal étudiés, et auxquels on a rattaché l'origine de certaines affections telles que le charbon, la septicémie, le choléra, etc...

Dans ces deux ordres de phénomènes, les microbes paraissent jouer un rôle actif; aussi les uns ont-ils considéré l'organisme microscopique comme l'agent morbifique de certaines maladies (M. Pasteur), tandis que d'autres n'ont voulu voir, dans les

maladies infectieuses, que des phénomènes essentiellement chimiques et indépendants de ces micro-organismes (Ch. Robin).

Quoiqu'il en soit de la théorie, l'étude des décompositions des matières albuminoïdes sous l'influence des ferments en est encore à l'état embryonnaire, ce qui tient à des causes multiples : la constitution chimique des corps fermentescibles est encore mal déterminée, malgré de nombreux travaux et en particulier ceux de M. Schutzenberger ; il en est de même pour un grand nombre des produits de la putréfaction ; enfin et surtout la multiplicité des ferments provoque la multiplicité dans les réactions.

Dans les fermentations que nous avons étudiées jusqu'ici, le rôle chimique du ferment est nettement déterminé, et la décomposition de la substance fermentescible en d'autres corps bien définis par leur nature, peut, en général, être représentée par une équation chimique. La putréfaction des albuminoïdes n'est plus un phénomène simple qu'on peut rapporter à l'action d'un micro-organisme unique, mais la résultante d'un grand nombre de phénomènes concomitants, ayant chacun probablement un micro-organisme spécial comme cause, et devant être représenté chacun par une équation chimique différente.

D'autre part, certains produits de la putréfaction dus à des ferments particuliers peuvent être décomposés à leur tour par de nouveaux ferments ; des termes intermédiaires entre les matières albuminoïdes et les produits ultimes de leur décomposition peuvent donc nous échapper ; de là une difficulté de plus pour pénétrer l'essence du phénomène.

Le problème ne pourra être résolu que le jour où l'on aura réussi à séparer les unes des autres les fermentations partielles dont l'ensemble constitue la putréfaction ; et jusqu'à présent bien peu de travaux ont été faits en ce sens ; ils se réduisent aux recherches de M. Miquel sur la fermentation sulfhydrique dont

nous avons déjà parlé (p. 209) et à celles de M. Duclaux sur la fermentation de la caséine, que nous résumerons avant d'aborder l'étude de la putréfaction.

§ 1. — *Fermentation de la caséine.*

Dans un travail de longue haleine sur les causes des maladies du fromage dans le Cantal, M. Duclaux (1) a découvert que ces maladies tenaient à une fermentation de la caséine sous l'influence de ferments figurés. Et en effet, de la caséine, abandonnée à l'air, mais à l'abri de tous les germes de l'atmosphère, n'éprouve aucune des maladies du fromage. La fermentation qu'elle subit est donc une putréfaction véritable due à l'intervention d'un grand nombre de microbes que M. Duclaux a cherché à isoler pour déterminer l'action spéciale de chacun d'eux.

Il a signalé, dans le fromage du Cantal, l'existence de plusieurs ferments connus : levûre alcoolique, ferment lactique, vibrion butyrique et micrococcus ammoniacal, puis a réussi ensuite à isoler dix microbes nouveaux du genre *Tyrothryx*, tous ferments de la caséine, dont sept aérobies et trois anaérobies, dont nous allons décrire sommairement les caractères.

Tyrothrix tenuis (Fig. 36, 3). — Bâtonnets cylindriques à contenu granuleux, mobiles, aérobies, de $0^{\mu}6$ sur 3μ, formant à la surface du lait une pellicule plissée qui se résout ultérieurement en un semis d'innombrables spores. Comme les suivants, il sécrète une présure coagulante et une caséase peptonifiante ; sous son influence le lait se coagule d'abord ; puis le caillot, qui est plus mou que celui que donne la présure de veau, se transforme peu à

(1) Duclaux, *Le lait, Étude chimique et microbiologique*. Paris, 1887 (*Bibliothèque scientifique contemporaine.*)

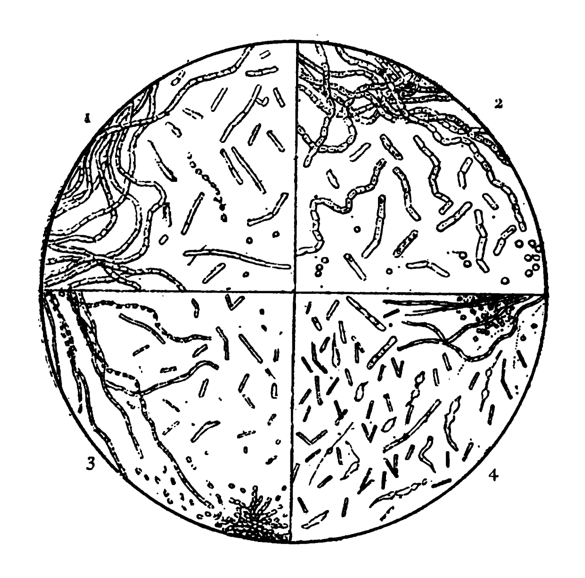


Fig. 36. Ferments aérobies de la caséine : 1. Tyrothrix turgidus; 2. Tyrothrix scaber ; 3. Tyrothrix tenuis ; 4. Tyrothrix virgula.

peu, de haut en bas, en un liquide opalescent qui renferme la peptone de la caséine; plus tard la peptone disparaît et la solution contient, outre des matières extractives, des produits de décomposition plus avancés de l'albumine; on y trouve en effet de la leucine, de la tyrosine, du valérate et du carbonate ammoniques; essentiellement aérobie, il ne se développe pas dans l'acide carbonique pur; son maximum d'énergie est entre 25 et 35°.

Adulte, il n'est tué par la chaleur qu'au delà de 100°; ses spores résistent encore à 115°; il n'attaque pas la lactose.

T. filiformis. (fig. 37, 4). — Bâtonnets courts de $0^{\mu}8$ de large, mobiles, aérobies, formant une pellicule superficielle ou des filaments en suspension dans le liquide; coagule difficilement et rarement le lait, mais donne encore des peptones et à côté, les produits de son activité vitale : leucine, tyrosine, urée, carbonate, valérate et acétate d'ammonium.

Adulte, il résiste à 100° sous la forme de spores; il n'attaque pas la lactose.

T. distortus. — Bâtonnets granuleux, aérobies, mobiles, disséminés dans la masse du liquide qui (lait) devient gélatineux et un peu brunâtre, comme de la gelée de viande; il ne coagule pas franchement le lait; sa caséase est peu active: le liquide renferme, à côté d'un peu de peptones, les mêmes produits que donne le précédent.

Ses limites de résistance à la chaleur sont, à l'état adulte, entre 90 et 95°, à l'état de spores, entre 100 et 105°; il n'attaque pas la lactose.

T. geniculatus. — Fils coudés de 1^{μ} de diamètre, immobiles, flottants dans le liquide. Sécrète moins de présure et de caséase que les précédents; transforme la caséine en une substance albuminoïde de nature particulière, et donne encore les mêmes produits de décomposition.

Adulte, il est tué à 80°; ses spores ne périssent qu'à 110°; sans action sur la lactose.

T. turgidus (fig. 36, 1). — Bâtonnets de 1µ sur 2 ou 3µ, très fortement aérobies, mobiles, donnant encore moins de présure et de caséase; le liquide contient, à côté d'albuminate alcalin (?), de la leucine, de la tyrosine, du butyrate et du carbonate ammoniques. Il agit sur la caséine par une véritable combustion dégageant de l'acide carbonique en quantité à peu près égale à celle de l'oxygène absorbé; 100 d'albumine se décomposent, sous son action, en 13 à l'état de carbonate d'ammoniaque, 48 d'albumine ou extractif, 7 de matière organique vivante formant les tissus du microbe. Le liquide prend l'odeur des caves à fromages; le maximum d'action est entre 25 et 30°.

Le microbe adulte est tué à 80°, ses spores à 115°; il ne consomme pas de lactose.

T. scaber. fig. 36, 2). — Articles courts de 1µ à 1µ2 d'épaisseur, finement granuleux, mobiles, aérobies, formant une pellicule superficielle; se développe bien dans la gélatine ou le bouillon, difficilement dans le lait, mais attaque légèrement la caséine; le liquide prend l'aspect du petit-lait et contient, outre la caséine non transformée, de la leucine, de la tyrosine, du valérate et du carbonate d'ammoniaque; le microbe n'attaque pas facilement la caséine et préfère les matières albuminoïdes déjà élaborées par d'autres organismes, et en particulier par les ferments précédents auxquels il succède; très aérobie, il consomme la lactose et exhale de l'acide carbonique.

Adulte, il meurt entre 90 et 95°; ses spores sont tuées à 105-110°.

T. virgula (fig. 36, 4).—Encore aérobie, il préfère la gélatine et le bouillon au lait; la gélatine est en partie brûlée et détruite, le reste est transformé en une substance nouvelle mal définie; il donne encore du butyrate et du carbonate d'ammoniaque.

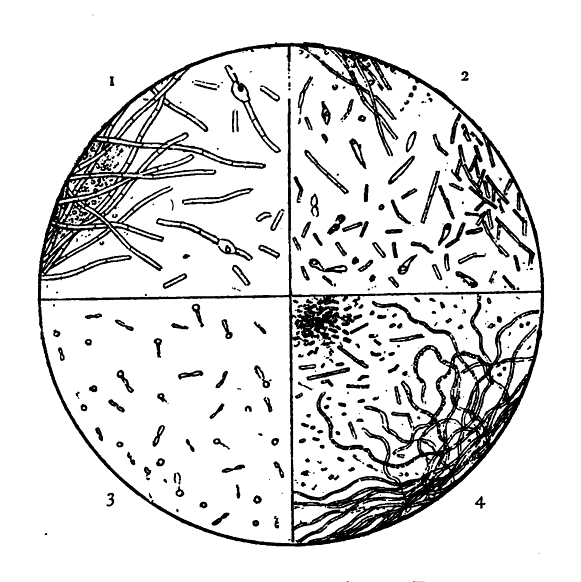


Fig. 37. Ferments anaérobies de la caséine : 1. Tyrothrix catenula ; 2. Tyrothrix urocephalum ; 3. Tyrothrix claviformis ; 4. Tyrothrix filiformis (aérobie).

Les liquides dans lesquels se développent ces divers ferments de la caséine deviennent plus ou moins alcalins, par suite de la production du carbonate d'ammoniaque; et les acides gras qui résultent de la décomposition de la molécule d'albumine perdent en grande partie leur odeur et leur saveur, à cause de leur saturation. Il n'y a jamais de dégagement de gaz appréciable, ces microbes se contentant de transformer l'oxygène en acide carbonique.

T. urocephalum (fig. 37, 2). — C'est probablement l'un des agents les plus actifs de la putréfaction. On le rencontre partout; il se développe facilement sur toutes les matières azotées. Cultivé dans du lait, dans un matras de Pasteur, il est formé de bâtonnets cylindriques de 1 μ de diamètre, très mobiles, s'agglomérant en plaques ou en îlots gélatineux et transparents, qui envahissent tout le liquide sans le coaguler. Si la température est un peu élevée, il se forme un coagulum très mou qui se redissout ensuite, et il reste finalement un liquide à peine louche, au fond duquel sont les amas gélatineux du microbe; celui-ci sécrète donc encore de la présure et de la caséase.

L'air du matras a perdu son oxygène qui est remplacé par un égal volume d'acide carbonique; dès ce moment, le microbe devient ferment anaérobie et donne un dégagement gazeux formé de 2 d'acide carbonique pour 1 d'hydrogène; une partie de cet hydrogène se transforme en acide sulfhydrique, et le liquide prend une odeur putride très désagréable.

Le microbe, ensemencé de suite dans du lait, en présence de l'acide carbonique, prend immédiatement son caractère ferment et provoque aussitôt le dégagement d'hydrogène, en même temps que le liquide dégage l'odeur putride; il consomme la caséine sans toucher aux graisses et à la lactose. Le liquide devient très nettement acide, et contient une substance analogue aux peptones, de la leucine, de

la tyrosine et du valérianate d'ammoniaque et d'ammoniaques complexes.

Ce vibrion adulte meurt entre 90 et 95°, dans un milieu un peu alcalin; ses spores périssent à 95-100° dans un liquide légèrement acide, entre 100 et 105° dans un milieu neutre,

T. claviformis (fig. 37, 3). — Petits bâtonnets de moins de 1 μ de diamètre, essentiellement anaérobies. Il exige une atmosphère d'acide carbonique ou le vide, et se développe très bien dans le lait qu'il coagule d'abord; le coagulum se redissout ensuite de bas en haut, et il reste un liquide à peine trouble. Il se produit encore un dégagement gazeux, formé d'environ 2 d'acide carbonique pour 1 d'hydrogène. Le vibrion attaque non seulement la caséine, mais aussi la lactose, qu'il transforme en alcool éthylique faiblement mélangé d'alcools homologues, et dont la proportion, par rapport au sucre disparu, est sensiblement d'accord avec l'équation de la fermentation alcoolique (p. 100). Le liquide contient une matière albuminoïde spéciale qui n'est plus de la caséine, de la leucine, de la tyrosine et de l'acétate d'ammoniaque; il est un peu acide et n'a pas d'odeur désagréable. Le dégagement gazeux est même parfumé, probablement par des éthers acétiques.

T. catenula (fig. 37,1). — Polymorphe; cultivé dans le vide ou dans l'acide carbonique, filaments courts et ténus de $0^{\mu}6$ de large, immobiles; ensemencé dans du lait aéré, mais avec une atmosphère pauvre en oxygène, filaments plus épais de 1^{μ} de diamètre, très mobiles. Sous son influence, le lait devient acide et se coagule en un dépôt granuleux et fin de caséine qui tombe au fond du vase; il se dégage abondamment un mélange gazeux de 3 d'acide carbonique pour 2 d'hydrogène; le liquide ne prend pas d'odeur putride et rappelle, par sa consistance et ses propriétés organoleptiques, le lait à moitié digéré que vomissent quelquefois les enfants à la ma-

melle. Le sucre de lait, d'abord respecté, est à la fin attaqué en partie; la caséine restée dissoute dans le liquide se transforme partie en acidalbumine, partie en produits de régression plus avancés : leucine, tyrosine, acide butyrique en partie saturé par l'ammoniaque. L'action du microbe est arrêtée de bonne heure par l'acidité du milieu qu'on peut neutraliser par le carbonate de chaux. La caséine précipitée n'est ni redissoute ni transformée, par suite de l'absence de présure et de caséase. Le microbe n'attaque pas le lactate de chaux, ce qui le distingue nettement du vibrion butyrique.

Adulte, il meurt à 90°, tandis que ses spores ne périssent qu'à 105°.

Ces divers ferments anaérobies de la caséine sont donc de plus médiocres producteurs de diastase que les précédents ; tout en donnant les mêmes acides gras que ces derniers, il les saturent moins d'ammoniaque et donnent des liquides plus odorants et plus sapides. L'odeur est d'ailleurs augmentée de celle des hydrogènes sulfuré et phosphoré qui résultent de l'action de l'hydrogène naissant sur les éléments sulfurés et phosphorés du milieu; enfin, il se produit toujours, sous leur influence, un boursouflement de la masse dû au dégagement gazeux d'acide carbonique et d'hydrogène.

Il est facile, maintenant, de comprendre le mécanisme de la disparition de la caséine dans du lait ou dans du caillé envahi par les divers ferments de cette substance : « A la surface de la masse, que ce soit du » lait ou du caillé, pulluleront les êtres aérobies, » empruntant à l'air son oxygène, et l'employant à » brûler les matières organiques en dissolution. » Quelques-uns, qui peuvent s'accommoder d'une pri- » vation plus ou moins complète d'oxygène, s'enfon- » ceront plus ou moins dans les profondeurs du » liquide, et s'y mélangeront avec des anaérobies » purs. Là, il y aura fermentation et dégagement ga-

» zeux désagréablement odorant dans la plupart des » cas.

» Une fois développés dans toute l'épaisseur du » liquide, ces êtres formeront en quelque sorte une » société de secours mutuel.

» Ceux de la surface préparent des diastases pour » ceux de la profondeur, et les préservent de l'ac- » tion de l'oxygène; ceux de la profondeur produi- » sent des gaz qui brassent le liquide, favorisent la » volatilisation du carbonate d'ammoniaque et ren- » dent la vie plus facile aux aérobies.

» Quelques-uns prennent comme point de départ » les matériaux élaborés par d'autres et respectés » ensuite, parce qu'ils sont devenus impropres ou » même nuisibles. Ils les détruisent, les décom- » posent, les amènent à une forme plus simplifiée, » sous laquelle les aliments sont repris par une » espèce moins difficile.

» De sorte qu'en résumé, la matière organique » initiale se réduit à ses éléments minéraux qui » restent, et à des matières gazeuses qui ont passé » dans l'air pour y recommencer une nouvelle série » de pérégrinations. » (Duclaux.)

§ 2. — *Fermentation putride, putréfaction.*

1. *Généralités.* — Toutes les fois qu'une substance animale ou végétale, abandonnée à l'air, se trouve dans des conditions de température et d'humidité convenable, elle éprouve une décomposition profonde qui s'accompagne d'un dégagement de produits volatils à odeur infecte et constitue la putréfaction.

La putréfaction a pour but final d'*analyser* et de résoudre à l'état de gaz et de matériaux salins, qu'elle restitue au sol et à l'atmosphère, les matières organiques complexes que les êtres vivants ont produits

dans leurs tissus, par *synthèse*, aux dépens de ces mêmes gaz et de ces mêmes sels.

L'histoire de la putréfaction a passé par les mêmes étapes successives que celle des fermentations en général, la fermentation alcoolique en particulier; il

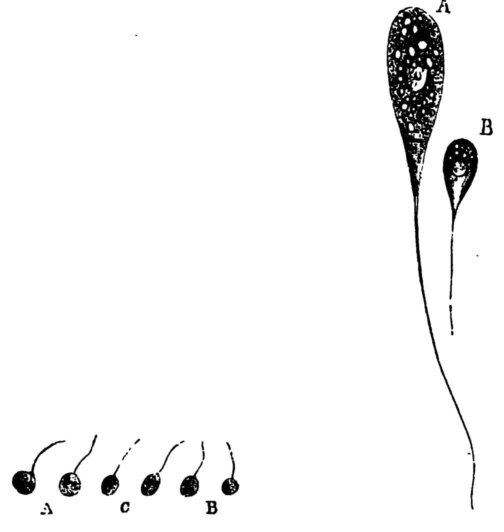


Fig. 38. — *Monas lens* (monade lentille).

Fig. 39. *Monas elongata* (monade allongée).

ne nous semble pas utile de revenir sur les diverses théories qui ont été invoquées pour expliquer le phénomène, théories qui ont été renversées par les recherches de Schwann, Ure, Helmholtz, Schrœder, Dusch et enfin de M. Pasteur, dont les travaux remontent à 1862 et auquel revient encore l'honneur d'avoir démontré le premier que la putréfaction, comme toute fermentation, est l'œuvre des microbes.

La fermentation putride des matières organiques azotées suit une marche un peu différente et aboutit

à des produits ultimes de nature diverse, suivant qu'elle s'effectue au contact de l'air ou dans le sol, que la matière putrescible est solide ou en solution dans l'eau.

Nous étudierons d'abord le cas le plus simple, celui de la putréfaction d'un liquide organique au contact de l'air.

2. *Ferments de la putréfaction.* — Si l'on abandonne au contact de l'air, et à l'étuve, du bouillon de viande ou une macération faite à froid de pois ou d'asperges, il se produit, au bout de quelques jours un dégagement gazeux plus ou moins abondant, accompagné d'une odeur putride.

A la surface du liquide, se trouve étendue une couche gélatineuse plus ou moins épaisse, composée d'une multitude d'infusoires dont Ehrenberg a compté plus de trente espèces: ce sont le *Monas crepusculum*, (fig. 38, 39) le *Bacterium termo*, le *Caténula*, etc., sous forme de ponctuations qui sont englobées dans une masse gélatineuse (zooglée) (fig. 40, 41). Ces microbes sont exclusivement aérobies et au microscope, on voit périr rapidement, faute d'air, ceux qui sont au milieu de la goutte liquide, tandis que ceux de la périphérie conservent leur vitalité. A la surface du liquide en putréfaction, ils sont mélangés à des moisissures également aérobies, des genres mucor et mucedo.

Dans la masse même du liquide, et protégés par le vide que forment les infusoires aérobies, vivent, en quantité énorme, des vibrions plus ou moins analogues au vibrion butyrique, et exclusivement anaérobies, d'après M. Pasteur; en effet, on voit au microscope se produire un phénomène justement inverse de ce que présentent les microbes superficiels; ceux qui sont à la péripherie de la goutte, deviennent promptement immobiles, tandis que ceux du centre même, préservés du contact de l'air, conservent plus longtemps leur activité.



Fig. 40. Amas de zooglée dans une petite veine.

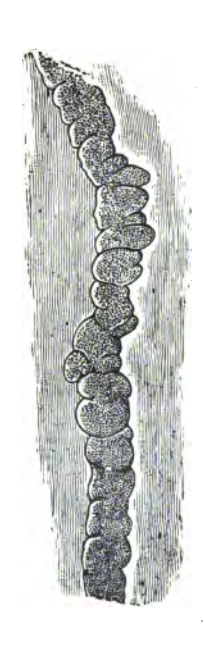


Fig. 41. Amas de micrococcus et de zooglée dans une veine.

Le rôle de ces deux groupes de ferments est le suivant, d'après M. Pasteur :

Les microbes superficiels, très avides d'oxygène, apparaissent les premiers, et ce n'est que quand ils ont enlevé au liquide tout l'oxygène dissout, que se montrent les vibrions anaérobies qui accomplissent leur œuvre de ferment à l'abri de l'oxygène de l'air dont ils sont séparés par la barrière formée par les aérobies.

Chacun de ces microbes a une action spéciale sur les éléments qu'ils sont capables de transformer, action qui devrait être traduite par une formule distincte pour chacun d'eux ; cependant, dans l'impossibilité où l'on est actuellement de distinguer, dans la putréfaction, la part qui revient à chaque microbe en particulier, on peut réunir leur action en deux groupes de phénomènes correspondant, l'un, à l'activité des microbes anaérobies, l'autre, à celles des vibrions aérobies de la surface.

Le rôle chimique des vibrions anaérobies consiste à dédoubler les matières albuminoïdes du liquide en produits gazeux et en corps solides de composition plus simple, sur lesquels ils n'ont plus d'action et qui leur sont même nuisibles, mais que les bactéries et moisissures aérobies de la surface brûlent à l'aide de l'oxygène de l'air ; il en résulte qu'une putréfaction à l'air sera toujours plus active et surtout plus complète qu'en vase clos, puisque, dans ce dernier cas, les vibrions de l'intérieur du liquide agissent seuls, et que leur action se trouve arrêtée à un moment donné par l'action toxique des produits auxquels ils ont donné naissance ; de là aussi ce double phénomène, signalé si souvent dans les putréfactions, de réductions et d'oxydations simultanées, et l'explication de ce fait que, quand l'accès de l'oxygène est insuffisant, la putréfaction peut bien commencer, mais ne se continue pas.

Comme on le voit, les conclusions de M. Pas-

teur, au point de vue de l'action anaérobie des vibrions contenus dans les liquides en putréfaction, sont absolues ; il conclut à la nécessité de l'absence complète de l'oxygène pour que leur activité se manifeste.

M. J. Lemaire a observé cependant qu'un accès modéré de l'air est nécessaire pour que la putréfaction se poursuive et se complète, et bien que les expériences de Nencki et de Kingzett semblent confirmer la manière de voir de M. Pasteur, M. Gunning tire de ses recherches personnelles les conclusions suivantes :

1° la présence de l'air est indispensable à la putréfaction ;

2° les êtres supposés anaréobies, par M. Pasteur, meurent quand ils n'ont pas à leur disposition de l'oxygène libre.

M. Pasteur a répondu à ces objections contraires à sa théorie, que si la fermentation s'arrête, c'est que les microbes sont transformés en germes et non pas tués ; et cependant la putréfaction ne reprend pas son cours quand on laisse rentrer de l'air dans les ballons, ce qui devrait se produire si les ferments étaient réellement transformés en spores.

Suivant Lemaire, la putréfaction comprend deux phases successives, au point de vue des organismes qui la provoquent.

Dans la première, *période fétide*, on voit se développer jusqu'à trente espèces d'infusoires, dont les principaux ont été étudiés par Ehrenberg.

Dans la seconde phase, *phase d'épuration,* ces petits êtres sont remplacés et détruits par des matières vertes, si la putréfaction a lieu à la lumière, incolores, si elle a lieu à l'obscurité, et constituées par des *Euglènes* (fig. 42 et 43), des *Vorticelles* et des *Protococcus*, etc.

Les germes de la putréfaction sont apportés par l'air, comme l'ont prouvé les expériences des auteurs

que nous avons cités précédemment, desquelles il résulte que des substances éminemment putrescibles, chauffées d'abord dans un ballon avec de l'eau de façon à chasser tout l'air par l'ébullition, ne s'altèrent plus, lorsqu'au lieu de laisser rentrer de l'air ordinaire dans le matras qui se refroidit, on n'y laisse pénétrer que de l'air préalablement chauffé au rouge ou simplement filtré sur une couche suffisamment épaisse de coton cardé.

La prolifération de ces petits organismes est extrêmement grande et rapide ; M. Davaine a compté plusieurs millions de vibrioniens et un plus grand nombre encore de granulations dans une goutte de sang putréfié (fig. 44) ; il a observé qu'une parcelle d'un liquide obtenu en diluant ce sang au billionième avec de l'eau ou mieux du sérum, produisait encore des accidents putrides dans le sang de l'animal auquel on l'injecte.

Outre la matière albuminoïde, les ferments de la putréfaction exigent encore, pour leur nutrition, des éléments minéraux, sulfate de magnésie, phosphate de chaux et de potasse. La matière albuminoïde peut être remplacée par un corps hydrocarboné et de l'ammoniaque, tout au moins pour les bactéries de la surface.

3. *Réactions chimiques et produits de la putréfaction.* — Les corps putrescibles sont les matières albuminoïdes dont la constitution est loin d'être connue, malgré les beaux travaux de M. Schutzenberger qui permettent cependant de les envisager comme résultant du groupement de plusieurs corps à fonctions chimiques différentes.

Chacun de ces corps est influencé dans la putréfaction, non pas par un seul ferment, mais par une multitude d'organismes qui, en agissant simultanément sur la même substance, doivent à leur fonction, spéciale pour chacun d'eux, de pouvoir donner naissance aux produits de décomposition les plus

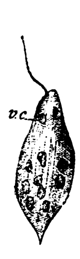


Fig. 42. *Euglena viridis.* (Ehr ex Schranck.)

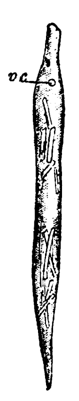


Fig. 43. *Euglena acus* avec formation de petits bâtonnets à l'intérieur, vers l'époque de la production. — *v*, *c*, vésicule contractile.



Fig. 44. Bactéries du charbon, parcelle d'un caillot.

divers. La majeure partie de ces produits est détruite à son tour par d'autres organismes, et ils échappent ainsi à l'analyse immédiate la plus minutieuse, ce qui explique la complication et les difficultés du problème.

Dans l'état actuel de la science et malgré les recherches récentes et si délicates de MM. Armand Gautier et Etard sur la putréfaction expérimentale, nous devons nous contenter de signaler les corps les plus importants dont on a signalé la présence dans les produits de la putréfaction, sans pouvoir expliquer par quelles séries de transformations successives ils ont pris naissance.

Les corps qui se forment dans la putréfaction peuvent être rangés en trois groupes :

Les *corps gazeux* qui se dégagent dans l'atmosphère ;

Les *corps volatils ;*

Et les *corps fixes*, solides ou liquides, qu'on retrouve dans la masse putréfiée.

(a). *Produits gazeux de la putréfaction.* — Les corps gazeux auxquels on attribue d'une manière peut-être un peu trop exclusive l'odeur fétide de la putréfaction, sont de l'acide carbonique, de l'azote, de l'ammoniaque, de l'hydrogène libre, de l'hydrogène sulfuré, des hydrogènes carburés et phosphorés.

Il résulte des recherches de M. Jeanneret et de MM. Armand Gautier et Etard, que la proportion d'acide carbonique, dans le dégagement gazeux, va en augmentant peu à peu, tandis que celle de l'hydrogène et de l'azote diminue, si bien qu'au bout d'un laps de temps variable de huit à vingt-six jours, il ne se dégage plus guère que de l'acide carbonique avec peu ou point d'azote, l'hydrogène ayant disparu.

L'hydrogène sulfuré provient soit de l'action exercée sur le soufre ou les matières sulfurées par l'hydrogène naissant, soit de la décomposition de la ma-

tière albuminoïde sous l'influence d'un ferment spécial analogue à celui dont M. Miquel a constaté l'action sur le soufre libre et sur le caoutchouc vulcanisé ; cet élément caractéristique de la putréfaction peut s'y trouver en quantité si faible que l'odorat ne le révèle pas, et qu'on est obligé, pour en déceler la présence, de recourir à des réactifs très sensibles comme le nitro-prussiate de soude.

MM. Kunckel et Gréhant ont reconnu la présence d'hydrocarbures dans les gaz de la putréfaction de la fibrine; MM. Brouardel et Boutmy (1) en ont trouvé également dans les gaz inflammables retirés du scrotum et de l'abdomen d'un noyé commençant à entrer en putréfaction.

Par contre, MM. Gautier, Etard et Popoff n'ont jamais pu en obtenir dans les putréfactions expérimentales des matières albuminoïdes qu'ils ont étudiées.

Les hydrogènes phosphorés et l'ammoniaque contribuent pour une grande part à l'odeur des gaz putrides. On connaît les gaz spontanément inflammables qui se dégagent du sol des cimetières, parmi lesquels existent des hydrogènes phosphorés très odorants, mais dont on n'a pas encore fait jusqu'à présent la détermination chimique.

Outre l'ammoniaque, les gaz de la putréfaction renferment des ammoniaques complexes qui interviennent pour une grande part dans leur odeur; on n'a encore réuni et caractérisé jusqu'à présent, dans les produits de la putréfaction des matières organiques, que l'éthylamine et la propylamine, à laquelle la saumure de harengs doit son odeur caractéristique.

L'ammoniaque se dégage en nature ou en combinaison avec l'acide carbonique ou avec des acides

(1) Brouardel et Boutmy, *Réactif propre à distinguer les ptomaines des alcaloïdes végétaux.* (*Ann. d'hyg.*, 1881, t. VI, p. 9.) — *Réaction des ptomaïnes et conditions de leur formation.* (*Ann. d'hyg.*, 1881, t. V, p. 497.)

gras. Le meilleur réactif à employer pour la caractériser est celui de Nessler, solution potassique d'iodure double de mercure et de potassium qu'elle précipite en brun.

(b). *Produits volatils de la putréfaction.* — Ces produits se volatilisent quand on soumet les liquides putréfiés à la distillation, en présence d'acides. Ils sont formés d'un mélange d'acides gras, de phénol, d'indol et de skatol.

Les liquides putrides renferment tous les acides gras, depuis l'acide acétique jusqu'à l'acide caproïque; ces acides sont tantôt les acides normaux, tantôt leurs homologues. L'acide propionique paraît moins fréquent que les autres ; l'acide formique est excessivement rare.

Baumann a démontré, le premier, la présence constante du phénol dans toutes les putréfactions ; à côté de lui se trouvent généralement l'indol qui possède l'odeur des matières fécales, et le skatol. Ces trois éléments ne se trouvent cependant pas dans tous les liquides putrides, ni dans les mêmes proportions. Odermatt a trouvé que les proportions de l'indol variaient de 0 à 0,153 pour 100 de matière albuminoïde, et celle du phénol de 0 à 0,347 ; pour ce dernier, le chiffre maximum est notablement supérieur à celui que donne Baumann.

Ces dérivés phénoliques se trouvent encore dans les feces et dans le contenu du tube intestinal où se produisent aussi des phénomènes de putréfaction, mais qui donnent lieu à des résultats différents ; tandis que chez l'homme soumis à une riche alimentation de viande, le skatol prédomine, l'indol étant à peu près absent ou ne se produisant qu'en petites quantités, on ne trouve que de l'indol et pas de skatol chez les chiens nourris avec du pain ou de la viande ; ces différences tiennent, suivant Brieger, à ce que la putréfaction dans l'intestin de l'homme, dans le tube digestif du chien et avec les matières anima-

les inertes, se produit dans des conditions différentes et sous l'influence de ferments d'espèces variables; d'autre part, tout le long du tube intestinal des phénomènes d'osmose se produisent, qui changent à chaque instant la nature et les proportions des produits de la fermentation.

Outre les composés volatils dont nous venons de parler, on trouve encore, dans les produits de la putréfaction, des substances de nature alcaloïdique, également volatiles au-dessus de 200°, mais éminemment altérables quand on les chauffe au contact de l'air; nous aurons à en parler dans le paragraphe suivant.

(c). *Produits fixes de la putréfaction.* — Les matières putrides, débarrassées de leurs acides et de leurs alcalis volatils par la distillation avec de la baryte d'abord, puis avec de l'acide sulfurique, puis amenées à consistance sirupeuse, abandonnent, par la

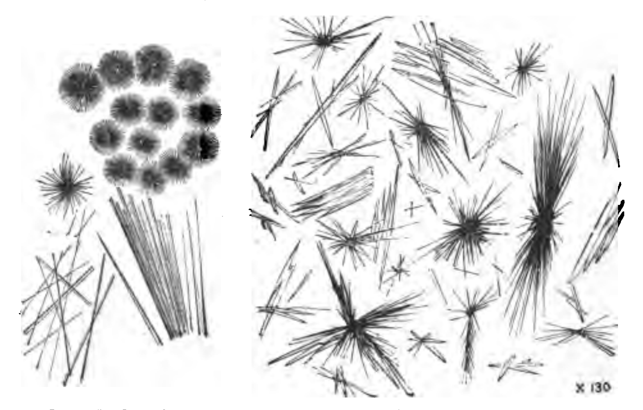


Fig. 45. Leucine. Fig. 46. Tyrosine.

cristallisation, de la leucine et de la tyrosine (fig. 45 et 46) à côté desquelles on trouve encore du glycocolle, de la butalanine, composés que les expériences

de M. Schutzenberger, sur la décomposition des matières albuminoïdes par la baryte, nous permettent d'envisager comme le résultat du dédoublement après hydratation de ces dernières, et qui sont décomposés à leur tour, en grande partie, avec production de l'ammoniaque, de l'acide carbonique et des acides gras dont il a été question précédemment; la formule suivante rend compte de cette décomposition dans le cas de la leucine qui, en présence de la fibrine putréfiée, se dédouble en acide valérique, ammoniaque, acide carbonique et hydrogène.

$$C^6H^{13}AzO^2 + 2H^2O = C^5H^{10}O^2 + AzH^3 + CO^2 + H^4$$

On a encore signalé, comme produits fixes de la putréfaction : l'acide oxalique (Duclaux), la xanthine et l'hypoxanthine, les acides phénylacétique et phénylpropionique, l'acide succinique (Krause et Salomon, Weyl, Salkowski) la guanidine (Gautier et Etard).

Tout nous prouve que la putréfaction est bien un phénomène complexe, constitué par une série de fermentations successives qui s'exercent sur des termes de plus en plus simples.

(d). *Produits alcalins de la putréfaction; ptomaïnes* — A côté de ces composés amidés, on trouve des produits alcalins qui, par leur constitution et leurs propriétés, se rapprochent plus ou moins des ammoniaques complexes ou des alcaloïdes organiques; ce sont des liquides huileux, incolores, qui, comme ces derniers, se combinent avec les acides pour former des sels cristallisables; leurs chlorures peuvent se combiner avec le chlorure d'or et le chlorure de platine pour former des sels doubles cristallisables bien définis; à l'état libre ils sont plus ou moins solubles dans les véhicules neutres tels que l'alcool, l'éther, la benzine, le chloroforme, l'alcool amylique, etc.; ils présentent la plupart des réactions générales des

alcaloïdes, et s'en rapprochent encore par une action toxique plus ou moins grande.

Cette dernière propriété vient s'ajouter à l'action septique des vibrions de la putréfaction, quand on inocule à un animal un peu de liquide putréfié ; ces deux ordres d'effets peuvent être différenciés l'un de l'autre.

Les alcalis de la putréfaction, injectés dans l'économie animale, agissent très rapidement ; leur action n'exige, pour se manifester, que le temps nécessaire à leur transport par le torrent circulatoire jusqu'aux éléments anatomiques qu'ils peuvent influencer ; aussi l'effet maximum est-il généralement atteint en quelques heures, après lesquelles les symptômes disparaissent peu à peu, lorsqu'il n'y a pas eu mort.

Il en est autrement des vibrions septiques, dont l'inoculation dans l'organisme ne produit de résultat sensible que tardivement, à cause de la période d'incubation préalable pendant laquelle se produit la réaction des éléments cellulaires de l'être inoculé contre le vibrion inoculé.

On donne aujourd'hui, d'après Selmi (1) le nom de *ptomaïnes* ou bases cadavériques, aux bases organiques extraites des matières albuminoïdes soumises à la putréfaction.

Entrevues par Panum, Bergmann et Schmiedeberg, (sepsine 1868), Zuelzer et Sonnenschein, elles n'ont été réellement étudiées, comme composés bien définis, qu'en 1872, par M. Gautier (2) qui découvrait que les matières protéïques, en se pu-

(1) Selmi, *Sur un alcaloïde qui s'extrait du cerveau, du foie et du coquelicot.* (*Gaz. chim. ital.*, 1875.) — *Sur les Planariés*, Bologne, 1878.

(2) A Gautier, *Les alcaloïdes dérivés des matières protéiques.* (*Journ. d'anat. et de physiologie*, Paris, 1881.) — *Sur les alcaloïdes dérivés de la destruction bactérienne ou physiologique des tissus animaux.* (*Bull de l'Acad. de méd.*, 1886.)

tréfiant, donnent toujours lieu à une petite quantité d'alcaloïdes toxiques fixes ou volatils, et par Selmi qui, à la même époque, trouvait dans l'estomac de personnes ayant succombé à une mort naturelle, des substances se comportant comme les alcaloïdes végétaux, affirmait ensuite, en 1874, que ces alcaloïdes étaient bien des produits de la putréfaction, mais ne concluait qu'en 1876 que ces alcaloïdes proviennent de la fermentation putride des matières albuminoïdes.

La nature de ces bases putréfactives est restée inconnue jusqu'en 1881 ; à cette époque, MM. Gautier et Etard, mettant en œuvre des centaines de kilogrammes de chair de poisson, de bœuf, de cheval, de mollusques divers, ont réussi à obtenir une quantité suffisante de ptomaïnes pour en déterminer la constitution et les propriétés, et pour les classer dans la famille des alcaloïdes organiques pyridiques et hydropydiriques.

Les ptomaïnes possèdent les caractères communs suivants : leurs sels cristallisables sont très altérables en présence d'un excès d'acide minéral qui les colore en rose ou en rouge, et en précipite rapidement une résine bleue. Elles sont très oxydables et très instables, surtout à chaud.

Leurs chloroplatinates cristallins sont tantôt solubles, tantôt peu solubles, et précipitent alors en jaune pâle, rose ou couleur chair. Ils sont tous solubles dans l'alcool éthéré, et beaucoup dans le chloroforme et l'alcool amylique.

Les réactifs généraux des alcaloïdes: réactif de Nessler, de Meyer, iodure de potassium iodé, iodure double de potassium et de bismuth, de cadmium, phosphomolybdate et phosphotungstate de sodium, etc., précipitent également les ptomaïnes; il en est de même du tannin et de l'acide picrique. Le chlorure d'or donne un précipité jaune soluble à chaud, ou un chloroaurate très soluble qui se réduit rapidement.

Elles présentent les réactions de coloration suivantes, principalement étudiées par Selmi : L'acide sulfurique très peu étendu d'eau les colore en rouge violacé; l'acide chlorhydrique seul ou mieux, mélangé d'acide sulfurique, donne une couleur rouge violacé que la chaleur développe; l'acide nitrique chauffé quelque temps avec elles, puis saturé de potasse, donne une belle coloration jaune d'or.

Douées d'une action réductrice énergique, elles réduisent à froid ou à chaud l'acide iodique, l'acide chromique, le chlorure d'or, le nitrate d'argent, le bromure d'argent, le chlorure ferrique qui devient alors apte à donner du bleu de Prusse avec le cyanure rouge.

Cette dernière réaction ne se produit pas avec la plupart des alcaloïdes végétaux, sauf la morphine et la vératrine (Boutmy et Brouardel), mais avec un grand nombre de bases organiques, la plupart artificielles, apomorphine, muscarine, bases pyridiques et hydropyridiques, allyliques, acétoniques (Armand Gautier).

Les ptomaïnes non oxygénées ont une odeur pénétrante et tenace d'aubépine, de musc, de seringa ou de rose, que M. Arm. Gautier a retrouvée dans les produits de putréfactions antiques datant de l'Age de pierre et de l'*Ursus spelœus*.

Les principales ptomaïnes connues et analysées jusqu'à présent sont :

La *parvoline*, $C^9H^{13}Az$, à odeur de fleurs d'aubépine, et l'*hydrocollidine*, $C^8H^{13}Az$, base très toxique, à odeur de seringa, retirées des produits de la fermentation bactérienne du scombre et de la viande de cheval (Arm. Gautier et Etard);

La *collidine*, $C^8H^{11}Az$, trouvée dans les produits de la digestion de la gélatine par le tissu pancréatique (Nencki), les bases $C^{17}H^{38}Az^4$ (Arm. Gautier) et $C^{10}H^{15}Az$ (MM. Guareschi et Mosso);

Les *oxybétaïnes*, bases oxygénées très vénéneuses, $C^7H^{18}Az^2O^6$ et $C^5H^{12}Az^2O^4$ (Gabriel Pouchet);

La *choline* qui provient de la putréfaction de la lécithine;

La *muscarine*, $C^5H^{15}AzO^3$;

La *neuridine*, $C^5H^{14}Az$;

La *cadavérine*, $C^5H^{16}Az^2$;

La *putrescine*, $C^4H^{12}Az^2$;

La *saprine*, $C^5H^1Az^2$;

Et la *mydaleïne*, non déterminée et seule toxique avec la muscarine (Brieger).

Les ptomaïnes libres sont plus toxiques que leurs sels. Leur injection aux animaux présente les réactions physiologiques suivantes : pupille dilatée ou irrégulière, puis rétrécie ; ralentissement des battements cardiaques, rarement augmentation ; respiration très violente, somnolence, puis convulsions et mort ; perte de la sensibilité cutanée et de la contractilité musculaire, même sous l'influence des excitants électriques.

Ce dernier fait rapproche les ptomaïnes des alcaloïdes vénéneux des champignons et surtout de la muscarine.

Les ptomaïnes qui prennent naissance en présence de certains métaux, comme l'arsenic, pourraient faire entrer le métal dans leur constitution ; et il semble résulter des recherches de Selmi que l'*aqua toffana* préparée en recueillant les liquides qui s'écoulent d'un porc éventré, saupoudré d'acide arsénieux et abandonné à la putréfaction spontanée, doit sa toxicité soit à des arsines spéciales ou à des arsénites, mais surtout à des alcaloïdes arséniés beaucoup plus toxiques qu'une simple dissolution d'acide arsénieux.

4. *Marche de la putréfaction.* — Des expériences que nous allons résumer et qui sont dues à MM. Gautier et Etard, il résulte, ainsi qu'on l'a dit précédemment, que, quelle que soit la nature de la matière albuminoïde qui fermente et l'espèce des germes que le hasard de l'ensemencement à l'air y a amenée, elle se transforme toujours, en grande

partie, en produits relativement simples qui en dérivent par dédoublement, avec hydratation et perte simultanée d'acide carbonique et d'ammoniaque.

Un morceau de viande de bœuf ou de cheval, acide et sans odeur, abandonné à lui-même à l'abri des vibrions de l'atmosphère, dégage une odeur acide et laisse suinter un liquide clair et sirupeux, riche en albumine soluble (20 à 22 grammes par litre). Si l'air et les ferments ont accès, les fermentations lactique et butyrique s'établissent d'abord, qui ramollissent la viande de boucherie et lui donnent une saveur spéciale que ne possède pas la viande fraîchement abattue ; des gaz se dégagent régulièrement, qui, dès les premiers jours de la fermentation, sont surtout formés de volumes égaux d'acide carbonique et d'hydrogène, comme si un hydrocarboné se transformait à la fois en acide lactique et butyrique :

$$2\,C^6H^{12}O^6 = 2\,C^3H^6O^3 + C^4H^8O^2 + \underset{4\ \text{vol.}}{2\,CO^2} + \underset{4\ \text{vol.}}{2\,H^2}$$

A ce moment le liquide est *acide;* il possède une odeur plutôt butyrique que putride, renferme principalement de l'acide lactique de fermentation et de l'acide butyrique, et ne laisse se dégager qu'une trace d'hydrogène sulfuré et phosphoré, et pas du tout d'hydrogène carboné. C'est à cette phase que correspond l'état du bouillon de viande aigri.

L'azote ne commence à apparaître que du 4e au 8e jour, et c'est avec lui que commence la vraie putréfaction ; les grands bacilles et les larges bactéries qui ont provoqué la fermentation acide du début disparaissent, et sont remplacés par des bacilles punctiformes qui attaquent la molécule albuminoïde par son côté uréïque et en dégagent abondamment de l'ammoniaque et de l'acide carbonique ; le milieu devient alors rapidement et fortement *alcalin*. La molécule protéïque fixe de l'eau et se

dédouble plus ou moins complètement en leucines, leucéines, acides gras, phénols, ptomaïnes, etc. ; il se dégage de l'acide carbonique à peu près pur, les ammoniaques restant pour la presque totalité dans le liquide qui leur doit son alcalinité, et les quantités d'hydrogène, d'azote et d'hydrogène sulfuré et phosphoré mises en liberté ne représentent qu'un poids très minime de la matière primitive, à peine 1/100.

Ce dégagement d'azote, bien que réel, ne constitue donc qu'un phénomène accessoire de la décomposition de la matière albuminoïde.

La fermentation acide du début, que subit la viande de mammifère, n'est qu'un épiphénomène de la putréfaction, comme le prouve manifestement la fermentation de la viande de poisson qui, dès le début, est *alcaline*, ne dégage pour ainsi dire pas d'hydrogène et ne subit jamais la fermentation lactique et butyrique ; ce fait prouve que l'acidification butyrique et lactique que présente au début la viande des animaux à sang chaud tient à une constitution spéciale de cette viande.

En même temps que cette fermentation acide, se produit la transformation des matières albuminoïdes en peptones, transformation qui constitue la première phase de la putréfaction de l'albumine, et qui se produit très probablement sous l'influence de ferments ou diastases peptogènes, solubles, sécrétés par les bactéries. On peut d'ailleurs séparer assez nettement cette première phase des phénomènes putrides proprement dits, caractérisés par le dégagement des gaz fétides : si l'on chauffe à 35-40 degrés 100 grammes de fibrine essorée, 400 grammes d'eau et 30 à 40 grammes de certains jus de fruits (ananas, citron, orange), on voit la fibrine se dissoudre rapidement, et, après vingt-quatre heures, la peptonisation est complète sans que le liquide ait d'odeur putride, bien qu'il renferme des myriades de bacté-

ries mobiles; porté à l'ébullition et filtré, il donne une solution dont il est aisé de retirer des peptones pures (A. Gautier).

Pendant que, dans l'épaisseur de la masse, se produisent ces phénomènes d'hydratation dont le premier résultat est la peptonification de la matière albuminoïde par des diastases que sécrètent les ferments eux-mêmes, phénomènes d'hydratation sans oxydation, souvent même accompagnée d'une réduction énergique, ainsi que le démontrent le dégagement d'hydrogène sulfuré et la présence du soufre trouvé en nature dans des tas de fumiers plâtrés, une oxydation très vive a lieu à la surface sous l'influence des ferments aérobies, oxydation manifestée par la présence de produits nitreux (azotites et azotates d'ammonium, de calcium) formés aux dépens de l'ammoniaque, et qui a pour but de réduire en éléments minéraux et volatils les matières qui résultent de la décomposition de la molécule albuminoïde ; il reste finalement une masse brunâtre, à peu près inodore, les produits fétides ayant été, eux aussi, comburés, mélange de matières humiques, grasses et minérales, qui se détruit très lentement sous l'influence de l'oxygène ambiant,

5. *Conditions de l'activité des ferments putrides.* — Comme toute fermentation, la putréfaction exige la présence de l'*eau* pour se produire; la privation totale d'eau s'oppose complètement au développement d'êtres vivants, et les matières les plus putrescibles, une fois desséchées, peuvent se conserver indéfiniment.

Ces mêmes matières, lorsquelles sont humides, peuvent se conserver indéfiniment au-dessous de 0°; témoin le mastodonte retrouvé en 1799 en Sibérie, à l'embouchure de la Léna, et conservé intact dans les glaces, pendant des milliers d'années.

A 6 ou 7° la fermentation commence et acquiert son maximum d'activité entre 20° et 30°; elle dimi-

nue de 60° à 70°, et s'arrête à une température un peu plus élevée.

Une fois commencée, la putréfaction devient par elle-même une source de chaleur; aussi, le fumier de ferme peut-il s'échauffer jusqu'à 40°, si bien qu'on doit l'arroser de temps en temps pour éviter sa destruction. Des masses végétales considérables, telles que du foin enfermé dans le fenil ou mis en meules trop humide, s'échauffent assez pour s'embraser spontanément.

On a vu précédemment que les corps ou les liquides en état de putréfaction présentent une réaction franchement alcaline. Lemaire avait observé, avant M. A. Gautier, que les vibrions de la putréfaction ne se développent bien que dans un milieu neutre ou alcalin, et que l'addition de quelques millièmes d'un acide quelconque et d'une faible proportion d'acide carbonique suffit pour en empêcher le développement.

Quand le milieu est acide, la masse putrescible est envahie exclusivement par des mycodermes, comme cela se passe pour les fruits sucrés; d'ailleurs, diverses espèces de microphytes peuvent se développer suivant les milieux : la pourriture des fruits acides est due au *penicillium glaucum* (fig. 47).

D'autres ferments envahissent les fruits sucrés, mous et compactes, et leurs espèces se succèdent à mesure que le milieu se modifie; c'est ainsi que, sur le grain de raisin dont la peau s'est entr'ouverte, se développe d'abord un champignon grisâtre, le *polyactis*, puis au bout de deux ou trois jours, des espèces colorées en rose, en noir, en vert (*penicillium, trichoterium, mucor*), qui provoquent la fermentation putride de la pulpe.

Nous savons déjà que les produits de la putréfaction s'opposent au développement des vibrions dont l'activité exige que les ferments aérobies de la surface consument ces produits au fur et à mesure de

leur production ; de là la nécessité de l'accès de l'air, au contact duquel la putréfaction se développe facilement et plus complètement qu'en vase clos ou dans une atmosphère d'acide carbonique ou de tout autre gaz inerte. Hildebrand et de Saussure avaient observé que des matières animales ou végétales peuvent se putréfier dans le gaz hydrogène et dégager de l'acide carbonique, mais que la destruction ne se produit que sur une minime quantité de substance ; elle devient bientôt languissante et s'arrête. Le charbon, qui absorde les gaz putrides, active ainsi la putréfaction.

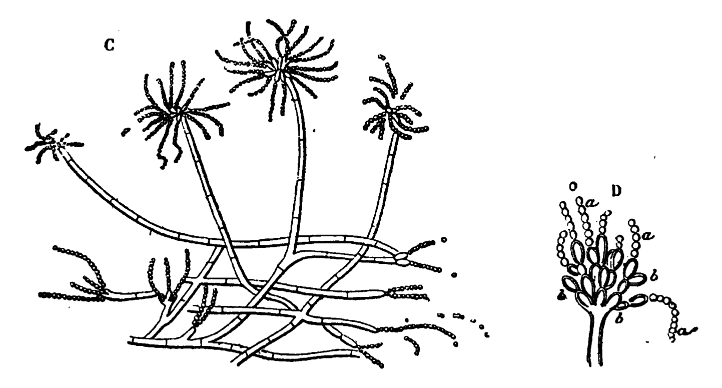


Fig. 47. *Penicillium glaucum* ou *Corominum vulgare*. — D, pinceau de spores en chapelet. (Krassinski.)

Le phosphate de chaux possède une action très singulière sur la putréfaction ; déjà, en 1865, M. Collas avait observé que l'addition d'une petite quantité de phosphate de chaux active beaucoup la décomposition de la viande et de la colle de poisson. M. Lefort a vérifié le fait, et trouvé de plus qu'aucun autre sel ne possède, à un si haut degré, le pouvoir d'exciter la putréfaction. Les cendres de poisson renferment beaucoup plus de phosphate de chaux que celles de

la viande des herbivores : 44,35 o/o dans les cendres de la perche, et 16,40 o/o dans les cendres de la viande de veau ; et d'autre part, la chair des mammifères contient 1/3 de plus de phosphates alcalins que celle des poissons ; or la chair du poisson s'altère bien plus vite que celle des mammifères, ce qui prouve bien que c'est le phosphate de chaux et non les autres phosphates qui possède ce pouvoir excitateur de la putréfaction.

§ 3. — *Putréfaction des corps solides*

La putréfaction des corps solides commence nécessairement par la surface qui est au contact de l'air, se manifeste par une fluidification, qui va de la périphérie au centre, et s'accompagne d'une transformation en ces composés que nous connaissons maintenant ;

« Et suivant que les espèces de vibrions présents » sécrèteront des diastases plus ou moins acti- » ves, suivant que l'air aura un accès plus ou » moins facile, suivant la température, l'état d'humi- » dité ou de sécheresse de l'air, on aura ou bien une » combustion surtout superficielle, dégageant peu » d'odeur, soit une véritable liquéfaction de la masse » solide, donnant naissance à une bouillie infecte, » soit une mortification avec dessication, comme » celles qui s'accomplissent si facilement sous l'ac- » tion des mucédinées, et qui ne s'arrêtent que lorsque » la matière organique est devenue une pincée de » cendres » (Duclaux).

Le cadavre humain abandonné à l'air libre, mais isolé de l'atmosphère ambiante par la peau, est le siège de fermentations continuellement anaérobies qui se manifestent, après huit jours d'abandon à l'air libre et à la température ordinaire, par une coloration superficielle et uniforme d'un vert sale et par

une odeur putride marquée. L'épiderme est soulevé par des ampoules pleines de sérum, le ventre est ballonné, la poitrine gonflée par les gaz et le tissu cellulaire plus ou moins emphysémateux. Les paupières, les joues, le nez se gonflent et cachent les yeux; le pénis est également gonflé et les bourses sont distendues par des gaz qui leur donnent le volume de la tête d'un enfant.

Après quatre à six semaines, le cadavre est à l'état de ramollissement putride; la peau éclate sous la pression des gaz et se fend au niveau de la poitrine et du ventre. A ce moment, les contours des membres sont effacés, la structure histologique des tissus est presque méconnaissable, et tous les organes sont transformés par la diastase des microbes de la putréfaction en une bouillie nutritive d'un brun sale, dont la disparition n'est plus qu'une affaire d'humidité, de chaleur et de temps.

Chez les noyés, la putréfaction est retardée par suite de l'abaissement de la température. Les tissus s'imbibent d'eau, le sang devient diffluent et les anaérobies seuls prennent possession du cadavre; la putréfaction se développe surtout dans l'intestin; le ventre se ballonne, tandis que le sang s'accumule dans la tête et la cavité thoracique et les porte à la partie la plus déclive; les taches vertes se produisent d'abord sur la tête, le cou et les épaules. Lorsque le ballonnement du corps est devenu suffisant, le cadavre vient à fleur d'eau et la putréfaction se développe comme à l'air libre, mais avec une production de gaz exceptionnelle qui distend le tissu sous-cutané et donne au corps une forme monstrueuse.

Le cadavre enfoui dans le sol présente les premières phases de la putréfaction du cadavre abandonné à l'air libre; enfoui dans un milieu poreux, humide et absorbant, dans lequel pénètre l'oxygène, il se recouvre d'une foule de végétations cryptogamiques parmi lesquelles dominent les aspergillus (fig. 48) et les peni-

cilliums, probablement mélangés de microbes aérobies. Il devient le siège d'un dégagement gazeux et d'une liquéfaction par les diastases; mais au lieu d'une bouillie, il se forme dès le début une masse

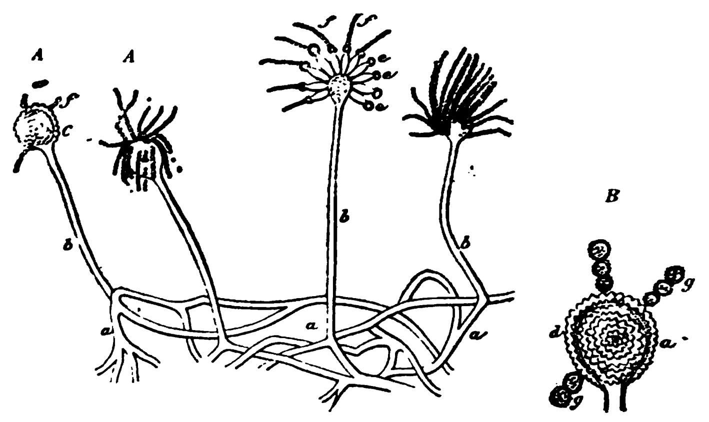


Fig. 48. *Aspergillas glaucus.* — A, *a*, *a*, mycelium; *b*, *b*, tiges; B, éminence de la tête; *g*, *g*, spores vert bleuâtre. (Krassinski.)

pâteuse où tous les organes mous sont confondus, les moisissures et le milieu ambiant lui enlevant constamment l'eau; puis la peau, les muscles et les tissus élastiques se transforment en une masse à consistance d'amadou qui se brise en petits fragments, et se mélange à la terre environnante; dans ces conditions, la disparition du cadavre est rapide, moins cependant qu'à l'air libre. Si le sol est imprégné d'eau et en quelque sorte submergé constamment, la putréfaction est considérablement ralentie et se rapproche des conditions de la putréfaction sous l'eau.

Quelquefois la destruction des cadavres enfouis dans le sol est presque nulle, comme on l'a observé lorsque, en 1840, on exhuma les corps des citoyens

morts en juillet 1830, pour les transporter sous la colonne de Juillet.

D'autres fois les masses musculaires sont remplacées par une substance comparable à du suif, et à laquelle Fourcroy a donné le nom d'*adipocire*. Ce *gras de cadavre* est composé principalement, d'après Chevreul, par un mélange de margarate et d'un peu d'oléate d'ammoniaque et de chaux; elle contient en outre un acide libre (peut-être de l'acide tartrique), des phosphates et des carbonates de chaux, une matière colorante jaune et une substance azotée indéterminée (leucine?).

Cette substance, de faible densité, paraît être de poids moindre que celui du muscle qu'elle remplace, et Chevreul a montré qu'on peut l'obtenir en saponifiant les graisses animales par l'ammoniaque; or le cadavre en putréfaction renferme, d'une part, des matières grasses, et d'autre part, des ferments de matières albuminoïdes qui fournissent du carbonate d'ammoniaque comme ceux de la caséine; il y a donc tout ce qu'il faut pour expliquer la formation de l'adipocire aux dépens de la graisse du cadavre.

On a prétendu que le gras de cadavre pouvait se produire aux dépens des matières albuminoïdes en se basant sur les faits suivants : l'on peut fortement engraisser un animal en le nourrissant avec de la viande absolument exempte de graisse; dans l'empoisonnement aigu par le phosphore, tous les tissus, et spécialement les globules sanguins et les fibres musculaires du cœur, sont le siège d'une rapide dégénérescence graisseuse, alors même que le patient est à la diète absolue: pendant l'incubation, la matière grasse augmente dans l'œuf, tandis que l'albumine diminue; à la suite du bistournage par lequel on détruit par la torsion les vaisseaux nourriciers du testicule qui se mortifie à l'abri du contact de l'air, la matière albuminoïde de l'organe se transforme presque complètement en graisse, sans dégagement de gaz pu-

trides (Chauveau). Enfin Blondeau a cru montrer que la caséine du fromage atteinte par la fermentation, ou sous l'influence des mucédinées, se transformait en matière grasse, opinion d'ailleurs contestée par M. Brassier qui a trouvé qu'au lieu d'augmenter, par suite de la maturation en présence des cryptogames, la matière grasse diminuait, et par M. Duclaux qui, dans ses études sur le fromage (1), n'a pas vu la matière grasse varier d'une manière sensible, mais subir une saponification plus ou moins avancée.

Mais aucune expérience ne prouve à l'heure qu'il est que l'adipocire est d'un poids supérieur à celui des graisses préexistantes dans le tissu musculaire ; la transformation des substances azotées en matières grasses, du moins dans le cadavre, n'est donc pas prouvée.

Dans certains cas les cadavres se dessèchent sans se putréfier, et cela sans préparation spéciale ; la peau se dessèche et resserre sur les os les masses musculaires qui se dessèchent aussi et diminuent de volume ; la forme générale du corps et l'aspect de la face se conservent. Les tissus desséchés et devenus cassants répandent une odeur un peu rance qui rappelle celle du fromage, mais n'a rien de putride ; cette *momification* est remarquable dans les caveaux de l'hospice du mont Saint-Bernard, du mont Saint-Michel, etc.

(1) Duclaux, *Le Lait, études chimiques et microbiologiques*, Paris, 1887, 1 vol. in-16. (*Bibliothèque scientifique contemporaine.*)

§ 4. — *Phénomènes de décomposition des matières albuminoïdes en l'absence des ferments figurés.*

L'expérience journalière montre que des œufs conservés pendant un certain temps peuvent se putréfier en répandant l'odeur bien connue des œufs pourris, et sans que la coque porte la moindre lésion, tandis que d'autres conservés dans les mêmes conditions, du moins en apparence, restent sains; d'autre part, des embryons de poulets morts dans leurs coques peuvent se décomposer avec tous les caractères d'une putréfaction repoussante ou se conserver sans la moindre odeur fétide.

Donné a proposé, de cette altération spontanée des œufs, l'explication suivante :

Les œufs naturels, non agités, abandonnés à eux-mêmes pendant les grandes chaleurs de l'été, restent des semaines et des mois sans subir aucune altération putride; mais si, par des secousses, on détruit la structure physique de l'intérieur de l'œuf, si l'on rompt la trame des cellules du corps albumineux et qu'on opère ainsi le mélange du jaune et du blanc, alors, même en empêchant l'accès de l'air par une couche de collodion à la surface de l'œuf, on voit apparaître tous les phénomènes de décomposition, excepté toutefois la production d'êtres vivants; car quel que soit le degré de pourriture de l'œuf, on n'y peut découvrir la moindre trace d'animalcules ni de végétaux microscopiques.

M. Béchamp n'avait pas vu non plus d'organismes dans les œufs pourris, et attribuait leur putréfaction à l'action des microzymas.

On sait toute l'importance de la question pour les adversaires de la théorie des générations spontanées, les faits observés par Donné et M. Béchamp étant

contraires aux idées de M. Pasteur sur la cause générale des putréfactions.

Dans un remarquable travail, un élève de M. Pasteur, M. Gayon (1), a cherché à faire rentrer l'altération spontanée des œufs dans la loi générale des fermentations énoncée par le maître; d'après lui, la putréfaction dans les œufs est corrélative du développement et de la multiplication de microbes qu'il a trouvés accumulés surtout sur le plancher de la chambre à air; ces microbes sont très difficiles à voir au microscope, leur indice de réfraction étant sensiblement égal à celui de l'albumine; dans les œufs putréfiés à coque mince, la périphérie contient des bacteries aérobies, tandis qu'au centre on ne trouve que des vibrions anaérobies qui se développeraient seuls à l'exclusion des organismes aérobies dans les œufs à coque trop épaisse pour que l'oxygène puisse facilement la traverser, où dans les œufs conservés dans un milieu d'acide carbonique ou d'hydrogène ou enduits d'une couche de collodion.

Suivant M. Pasteur, ces organismes pénétreraient dans l'œuf, à l'état de germes, au moment même de sa formation ; on les trouve en effet, en grandes quantités, dans l'oviducte de la poule.

Dans la putréfaction de l'œuf, le sucre disparaît et il se forme des acides volatils, parmi lesquels de l'acide butyrique, des produits alcooliques, de l'acide carbonique, de l'hydrogène sulfuré, de l'ammoniaque, de la triméthylamine, de la leucine et de la tyrosine; mais tandis que dans les œufs pourris à l'air, l'odeur de l'hydrogène sulfuré domine et la réaction de l'œuf est légèrement acide, dans les œufs pourris à l'abri de l'air, l'odeur repoussante semble due à un mélange de sulfhydrate d'ammoniaque, de phosphures d'hydrogène et d'ammoniaques complexes ; en outre la réaction est toujours alcaline.

(1) Gayon, *Recherches sur les altérations spontanées des œufs*, Paris, 1875.

M. Gayon a observé une modification spéciale, distincte de la putridité ordinaire et de la fermentation acide de certains œufs maintenus à 25°. La masse décomposée a une teinte jaune sâle, une odeur de matières animales sèches et une grande fluidité ; elle contient beaucoup d'aiguilles cristallisées et de mamelons cristallins formés de tyrosine ; les quantités de leucine et de tyrosine sont bien supérieures à celles qui existent dans les œufs pourris.

Dans les œufs ainsi décomposés, M. Gayon n'a pas trouvé trace de microbes, et cependant la production de leucine et de tyrosine sont la preuve palpable de la décomposition des matières albuminoïdes.

Y a-t-il donc putréfaction en dehors des ferments figurés ?

Non il n'y a pas putréfaction proprement dite ; mais la masse de l'œuf privé de vie se trouve placée dans des conditions nouvelles telles que ses principes immédiats, peut-être par leur contact, deviennent le siège de réactions chimiques nouvelles, résultant d'une sorte de vie de la cellule se prolongeant au delà de la mort de l'ensemble, comme nous l'avons vu dans la fermentation alcoolique des fruits sucrés soustraits au contact de l'air.

§ 5. — *Fermentations des matières albuminoïdes chez l'être vivant.*

1. *Généralités.* — Nous venons d'étudier les phénomènes de putréfaction dans le cadavre animal ou végétal ; nous avons vu les matières albuminoïdes, soustraites à l'influence vitale, subir une désagrégation moléculaire profonde, sous l'influence des microbes qui, d'après les recherches de M. Pasteur, sont de deux espèces d'après leur mode d'action.

Les uns, vibrions, décomposent à l'abri de l'air la molécule albuminoïde.

Les autres, bactéries et mucédinées, oxydent ces produits de décomposition et les transforment en produits minéraux volatils.

Tous ces phénomènes, qu'ils soient relatifs à la caséine ou aux autres matières albuminoïdes, ont montré cela de commun que la régression de la molécule organique primitive a été opérée par étapes successives, sous l'influence de microbes souvent différents, il est vrai, et dont l'histoire détaillée est loin d'être faite, mais qui agissent d'une façon sensiblement analogue.

Ils secrètent tout d'abord une diastase qui dissout et fluidifie la matière albuminoïde coagulée, et la prépare à être assimilée par eux ; puis leurs espèces se succèdent, s'attaquent aux produits de déchets qui résultent de l'action d'une espèce précédente et constituent comme les matières excrémentitielles encore utilisables pour d'autres espèces.

Dans ces étapes successives, la molécule d'albumine perd peu à peu ses éléments simples, carbone, hydrogène, oxygène, soufre, azote, par une véritable dégradation analogue à celle qu'éprouve la molécule d'amidon sous l'influence de la diastase de l'orge germé, avec cette différence que les produits plus simples qui prennent naissance ne sont pas des isomères les uns des autres, comme les diverses dextrines, de sorte qu'aux peptones d'abord produites succèdent des matières cristallisables parmi lesquelles nous avons indiqué la leucine, la tyrosine, la butalanine, des sels ammoniacaux d'acides gras, l'urée, le carbonate ammonique ; ceux-ci se résolvent à leur tour plus ou moins complètement en produits essentiellement minéraux qui retournent à l'air ou au sol, pour rentrer dans le cycle continu de la matière.

Mais de même qu'un grand nombre des espèces microbiennes qui interviennent dans la transforma-

tion régressive des matières albuminoïdes sont encore peu ou point connues, de même les produits de ces microbes n'ont pas tous été isolés, soit que la phase de leur production passe inaperçue, soit que leur trop faible proportion les laisse dissimulés à l'état de mélange dans ces résidus d'analyse auxquels le chimiste donne le nom de matières extractives, peut-être parce que les moyens dont il dispose ne lui permettent plus d'en rien extraire, d'en rien isoler.

Si nous passons maintenant du monde des infiniment petits que nous venons de voir si puissants dans leur collectivité, à l'étude des phénomènes vitaux dans les organismes supérieurs, chez l'homme et les animaux, nous y trouvons des transformations analogues de la matière organisée, transformations d'ailleurs manifestées par l'extrême analogie des produits. Seulement, tandis que par suite de l'individualité de chaque espèce de microbe, il est relativement facile de se rendre compte de son action biologique, et d'analyser avec soin les conditions de son existence, il en est autrement de notre organisme, réunion d'un nombre immense de cellules diverses dont le mode d'existence nous est encore inconnu, par suite de la connexion de ces cellules dont l'action physiologique est fatalement influencée, comme le dit M. Duclaux, par les répercussions et décompositions de forces qui se produisent dans cet ensemble si compliqué et si délicat, où les propriétés individuelles des cellules sont difficiles à mettre en évidence.

Nous allons retrouver, en effet, dans les produits d'excrétion des êtres supérieurs, les mêmes matériaux que nous avons vu se produire dans la putréfaction. Ces éléments de déchets, qu'ils proviennent de l'organisme vivant ou de la putréfaction, ne sont et ne peuvent être que les résultats de la vie cellulaire, qui se manifeste diversement, suivant qu'il

s'agit des êtres supérieurs ou des microbes, mais qui aboutit à des produits qui sont les mêmes pour le plus grand nombre.

2. *Réactions chimiques et produits de la désassimilation dans l'organisme animal.* — Les principes immédiats de l'économie animale peuvent être ramenés à trois groupes qui correspondent aux trois variétés d'aliments nécessaires à l'entretien et au fonctionnement de l'être vivant, quelle que soit d'ailleurs la place qu'il occupe dans l'échelle : ce sont les matières albuminoïdes, les hydrocarbonés et les sels minéraux. Les matières albuminoïdes seules nous intéressent par leurs produits de déchets que nous distribuerons encore en trois groupes, comme ceux de la putréfaction : les *corps gazeux*, les *produits volatils* et les *composés fixes*, solides ou liquides.

(a). *Produits gazeux de la désassimilation animale.* — La force vive qui se manifeste pendant le mouvement musculaire est fournie principalement et presque exclusivement par la combustion du glucose apporté par le sang dans les capillaires des tissus ; ce glucose représente la houille de la machine à vapeur. Mais tout organe s'use pendant son mouvement, soit par suite de frottements comme dans une machine inanimée, soit pour obéir à la loi générale du renouvellement de la matière comme dans la machine animée ; la substance du muscle s'oxyde aussi et concourt pour une certaine part à la production de chaleur et par suite de force ; ces oxydations se produisent aux dépens de l'oxygène de l'hemoglobine du sang artériel qui, après son passage dans les tissus auxquels il cède les éléments nutritifs solides, liquides et gazeux, se change en sang veineux désoxydé et enrichi par les produits de déchets de ces tissus. Le sang artériel, d'oxygéné et de couleur rutilante qu'il était, s'est transformé en un sang veineux, brun foncé, appauvri en oxygène, riche au

contraire en *acide carbonique* provenant de la combustion complète non seulement des hydrocarbonés, mais encore d'une partie, minime il est vrai, de la substance albuminoïde du muscle. Cette différence dans la proportion d'acide carbonique produite par les hydrocarbonés et les matières albuminoïdes, dans l'économie animale s'explique, d'ailleurs par ce fait que l'oxydation des premiers est immédiate et complète, et donne naissance, là où elle se produit, à une quantité équivalente d'acide carbonique et d'eau, comme la combustion directe de l'alcool, par exemple, ou de la cellulose dans l'air, ainsi que le montrent les formules suivantes :

$$C^2H^6O + 6O = 2CO^2 + 3H^2O$$
Alcool. Ac. carboniq. Eau.

$$C^6H^{10}O^5 + 12O = 6CO^2 + 5H^2O$$
Cellulose.

$$C^6H^{12}O^6 + 12O = 6CO^2 + 6H^2O$$
Glucose.

tandis que l'oxydation des matières albuminoïdes, très indirecte, se fait, comme nous l'avons dit, par étapes successives, par dégradation avec oxydation de la molécule primitive, de sorte que le principal produit de déchet de l'albumine dans l'organisme, celui dont les variations rendent le mieux compte des modifications pathologiques de la désassimilation, est représenté par un corps solide, fixe, éliminé normalement par les urines ; nous voulons parler de l'*urée*, dont la formule ne diffère que par 2 molécules d'eau de celle du carbonate d'ammonium en lequel elle se transforme avec la plus grande facilité, comme nous l'avons vu précédemment.

Malgré les résultats contraires obtenus par Voit et Pettenkofer, il semble résulter des recherches récentes de MM. Nowak et Seegen, qui viennent confirmer celles de Regnault et Reiset, que les animaux exhalent de l'*azote*, en quantité faible il est

vrai, de 5 à 9 milligr. par kilogr. d'animal, mais en rapport avec le poids de l'animal et la durée des expériences, ce qui tendrait à prouver une désassimilation partielle des éléments azotés à l'état de gaz azote libre.

L'*hydrogène* est éliminé sous diverses formes ; la majeure partie à l'état d'eau résultant de l'action de l'oxygène de l'air introduit par les poumons dans l'organisme sur l'hydrogène des substances alimentaires, le reste, et la plus faible proportion, à l'état de gaz libre et d'*hydrogène sulfuré* et *protocarboné*. Pettenkofer a en effet trouvé de l'hydrogène libre et de l'hydrogène protocarboné dans l'air expiré par un chien nourri avec de la viande et du sucre ; Regnault a trouvé aussi de l'hydrogène carboné, mais en outre de l'hydrogène sulfuré, dans les produits de la respiration ; tous ces gaz peuvent provenir, au moins pour la plus grande partie, des fermentations intestinales où ils sont constamment présents, mais rien ne prouve que certaines cellules de l'organisme ne puissent leur donner naissance, analogues dans leur action à celles des ferments anaérobies. Et de fait, cette hypothèse de l'existence de cellules anaérobies vers l'économie animale est confirmée par certains phénomènes de réduction d'ordre physiologique, tels par exemple que la transformation de l'asparagine des aliments en acide succinique qui est éliminé par les urines, transformation réellement produite par un phénomène de réduction, comme l'indique la formule suivante :

$$\begin{matrix} CH.AzH^2.CO.AzH^2 \\ CH.^2COOH \end{matrix} + H^2O + H^2 = \begin{matrix} CH^2.COOAzH^4 \\ CH^2.COOAzH^4 \end{matrix}$$

Asparagine, Ac. Amido-succinique amidé. — Succinate d'ammonium.

L'*ammoniaque* et les *ammoniaques complexes* ou animés existent encore dans l'organisme vivant. On a trouvé de la *triméthylamine* dans du sang de veau

très frais ; l'*ammoniaque* existe à l'état de traces dans l'air expiré; c'est du moins ce qu'affirment divers auteurs, Kühne, Thiry, etc., tandis que d'autres ont nié le fait; elle se trouve aussi dans le sang, la salive, l'urine acide, l'albumine de l'œuf; mais elle peut provenir d'une diffusion générale des sels ammoniacaux qui accompagnent les putréfactions intestinales.

Cependant, de toutes les théories actuelles sur le mode de formation de l'urée dans l'économie animale, la plus généralement admise est la suivante : l'urée résulterait de la déshydratation du carbonate d'ammonium au moment de la formation de ce composé salin dans l'économie par union directe de ses éléments, acide carbonique et ammoniaque, celle-ci provenant de l'oxydation complète, ou du moins aussi complète que possible des tissus azotés, puisque nous avons vu que le terme ultime de cette oxydation, l'azote n'est produit qu'en très minime proportion; cette théorie qui suppose la présence de l'ammoniaque libre, à un certain moment, dans le sang, est vérifiée d'une part par l'augmentation de l'urée après l'ingestion des sels ammoniacaux (Schmiedeberg, Salkowski, Voit, etc.), puis par la présence, constatée dans le sang par Drechsel, de traces de carbamate d'ammonium, terme intermédiaire entre le carbonate ammonique et l'eau.

$$\underset{\text{Carbonate ammon.}}{CO \begin{cases} OAzH^4 \\ OAzH^4 \end{cases}} - H^2O = \underset{\text{Carbamate d'ammonium.}}{CO \begin{cases} OAzH^4 \\ AzH^2 \end{cases}}$$

$$\underset{\text{Carbamate d'ammonium.}}{CO \begin{cases} OAzH^4 \\ AzH^2 \end{cases}} - H^2O = \underset{\text{Urée.}}{CO \begin{cases} AzH^2 \\ AzH^2 \end{cases}}$$

(b). *Produits volatils de la désassimilation.* — Ici encore, nous retrouvons les mêmes corps que ceux qui ont pris naissance dans la putréfaction; l'éco-

nomie renferme probablement tous les acides gras, depuis l'acide formique jusqu'à l'acide caproïque : l'*acide formique* existe dans les urines, la sueur, la rate, le pancréas, les muscles, le thymus, le cerveau ; l'*acide acétique* se trouve dans les diverses glandes ; l'*acide propionique* paraît plus rare, et n'a été trouvé que dans la sueur, avec l'*acide butyrique* qui existe aussi dans le tissu musculaire, les glandes, et quelquefois seulement dans les urines. Les termes supérieurs n'ont pas été isolés, mais paraissent exister dans la sueur en particulier, qui doit sans doute son odeur à plusieurs d'entre eux, tels que l'acide caproïque, l'acide valérianique. Des odeurs du même genre, variables suivant les espèces, se dégagent du sang traité par l'acide sulfurique concentré (Barruel).

Les *phénols* apparaissent dans les urines à l'état de dérivés sulfoconjugués, tels que les phenolsulfates, l'indican (acide indoxisulfurique).

Tous ces acides peuvent provenir d'une résorption des produits de la putréfaction intestinale, mais rien ne prouve qu'ils ne soient pas aussi des termes de la destruction de la molécule d'albumine dans les éléments cellulaires de l'organisme vivant.

(c). *Produits fixes de la désassimilation.* — A l'état normal, l'économie renferme de la *leucine* associée à la *butalanine* dans le pancréas ; elle se trouve encore dans le foie, les reins, le cerveau, les glandes lymphatiques, et en plus grande quantité dans la rate, le thymus, la glande thyroïde, les poumons, les glandes salivaires, parotides et sous-maxillaires. Elle apparaît à l'état pathologique dans le pus, le sang, les muscles.

La *tyrosine* existe dans le foie, le pancréas, la rate, à l'état normal, et augmente notablement toutes les fois que la désassimilation des tissus azotés est suractivée, par exemple dans l'atrophie aiguë du foie, où la proportion de leucine est également accrue, dans la bile des typhiques, etc.

La *xanthine*, l'*hypoxanthine* et l'*acide urique* sont intimement liés entre eux, comme produits d'une oxydation progressive, ainsi qu'il résulte de leurs formules brutes :

$C^5H^4Az^4O^3$	$C^5H^4Az^4O^2$	$C^5H^4Az^4O$
Acide urique.	Xanthique.	Hypoxanthine.

Et si l'on n'a encore pu passer, au laboratoire, de l'acide urique à la xanthine et inversement, la relation intime qui existe entre ces trois corps est démontrée par l'existence de la xanthine dans les calculs vésicaux, et par la présence simultanée de la xanthine, de l'hypoxanthine et de l'acide urique dans les dépôts urinaires.

L'*hypoxanthine* existe dans le muscle et le cœur du cheval et du bœuf, la rate du bœuf, le thymus du veau, la moelle osseuse, le foie, la rate et le pancréas chez l'homme ; la *xanthine* se trouve également dans les organes glandulaires; les végétaux en renferment encore.

La *guanine*, que les agents d'oxydation transforment en guanidine et xanthine, existe dans le foie, le pancréas, les glandes salivaires, le liquide spermatique du saumon, le guano, produit d'excrétion des oiseaux aquatiques.

L'*urée* est, de tous les produits de désassimilation, le plus important, comme nous l'avons dit; nous l'avons trouvée dans les produits de l'action des microbes sur les matières albuminoïdes.

Acides fixes. — On trouve encore, dans l'économie animale, les acides lactiques, succinique, oxalique et urique.

L'*acide lactique* a été isolé sous ses trois formes isomériques; il existe dans l'intestin, mais aussi dans le suc musculaire et les glandes diverses, foie, rate, pancréas, poumons, etc. Sa présence dans le muscle peut être rattachée à la décomposition, par hydratation, de la créatinine en sarcosine et en urée,

$$\underset{\text{Créatine.}}{C^4H^9Az^3O^2} + H^2O = \underset{\text{Sarkosine.}}{C^3H^7AzO^2} + \underset{\text{Urée.}}{CH^4Az^2O}$$

la sarkosine elle-même donnant naissance à l'acide lactique, par un nouveau phénomène d'hydratation.

$$\underset{\text{sarkosine}}{C^3H^7AzO^2} + H^2O = \underset{\text{ac. lactique}}{C^3H^6O^3} + AzH^3$$

L'acide de fermentation qui apparaît dans l'estomac à la suite de fermentations anormales des aliments sucrés, peut être résorbé et passer dans le sang.

L'*acide succinique* a été trouvé dans la rate, le thymus et la glande thyroïde ; il existe aussi dans les kystes hydatiques et les liquides d'hydrocèle, et passe dans les urines à la suite de l'ingestion des turions d'asperges et de divers autres végétaux, betteraves, pois, lentilles, etc. ; il se forme, dans ce dernier cas, aux dépens de l'asparagine et, comme nous l'avons vu, par un phénomène de réduction.

Il en est de même de l'*acide oxalique* qui passe dans les urines à l'état de sel de chaux chez les individus qui abusent des boissons riches en gaz carbonique, eau de Seltz, champagne, et qui sont le siège d'un nouveau phénomène de réduction que traduit la formule suivante :

$$\underset{\text{Acide carbonique.}}{2CO^2} + \underset{\text{Eau.}}{H^2O} = \underset{\text{Oxygène.}}{O} + \underset{\text{Acide oxalique.}}{C^2O^4H^2}$$

Cet acide oxalique peut aussi provenir du dédoublement de l'acide urique qui se décompose en urée et alloxane, de laquelle dérive, par hydratation sous l'influence des bases, une nouvelle quantité d'urée et de l'acide mésoxalique qu'une oxydation incomplète transforme en acide carbonique et en acide oxalique.

$$C^8H^4Az^4O^3 + O = C^4H^2Az^2O^4 + CH^4Az^2O$$
Ac. urique. Allonane. Urée.

$$C^4H^2Az^2O^4 + 2H^2O = CH^4Az^2O + C^3O^5H^2$$
Urée. Ac. mésoxalique.

$$C^3O^5H^2 + O = CO^2 + C^2O^4H^2$$
Ac. mésoxalique. Ac. oxalique.

Cette hypothèse est corroborée par l'augmentation de l'urée à la suite de l'ingestion d'acide urique (Zabelin), et par l'augmentation de la quantité d'oxalate de chaux contenue dans les urinès après l'injestion intraveineuse d'urates alcalins (Wohler et Frérichs).

§ 6. — *Produits alcalins de la désassimilation physiologique; leucomaïnes.*

Les diverses sécrétions normales renferment, comme les produits de putréfaction, des substances alcaloïdiques, la plupart vénéneuses, et auxquelles les venins de certaines espèces animales doivent peut-être leurs propriétés ; ces résultats viennent encore montrer la grande analogie entre les produits normaux de l'organisme et ceux de la putréfaction, produits qui, dans un cas comme dans l'autre, ne sont que des résultats de la vie cellulaire.

« Cette vie s'exerce suivant des modes différents,
» se traduit par des manifestations diverses, mais
» certains des produits auxquels elle aboutit sont les
» mêmes, qu'il s'agisse du monde des animaux su-
» périeurs ou de celui des infiniment petits (Du-
» claux) ».

M. Armand Gautier a proposé le nom de *leucomaïnes* pour désigner les alcaloïdes physiologiques qui sont fabriqués dans des conditions normales par les tissus vivants et à l'état sain.

MM. Ritter et Schlagdenhauffen en 1874, et M. Paterno en 1875, paraissent avoir observé les premiers l'existence, dans certains végétaux non producteurs d'alcaloïdes (feuilles d'oranger, etc.), de petites quantités de substances présentant les réactions générales des alcaloïdes.

En 1860, M. Spica a trouvé des alcaloïdes semblables à ceux de Selmi dans les liquides retirés de l'abdomen d'une femme atteinte de grossesse extra-utérine.

La même année, M. Gabriel Pouchet retirait de l'urine humaine un alcaloïde toxique que M. A. Gautier reconnut présenter les propriétés générales des ptomaïnes, et en particulier leur action réductrice.

Depuis cette époque, les recherches de MM. Gabriel Pouchet, Armand Gautier, Bouchard, Paterno, Spica, etc., ont prouvé la présence constante de ces leucomaïnes dans les divers tissus et humeurs de l'économie animale, et démontré qu'ils augmentent notablement au cours de certaines affections pathologiques.

M. Gautier a retiré du venin du trigonocéphale, et surtout de celui du Naja de l'Inde, deux alcaloïdes nouveaux, stupéfiants, de la nature des ptomaïnes, et probablement analogues à l'alcaloïde que Cloez avait signalé en 1852 dans le venin de crapaud et de la salamandre.

La production des ptomaïnes dans l'économie normale est donc un acte physiologique constant et nécessaire qui accompagne le dédoublement des matières albuminoïdes au même titre que la formation de l'acide carbonique, de l'eau et de l'urée.

Les principales leucomaïnes étudiées jusqu'à présent sont les suivantes : la xanthocréatinine $C^5H^{10}Az^4O$, la chrysocréatinine $C^5H^8Az^4O$, l'amphicréatine $C^9H^{19}Az^7O^4$, la pseudoxanthine $C^4H^5Az^5O$, retirées du suc musculaire et étudiées par M. Gautier; ces alcaloïdes, parfaitement définis et cristallisés, sont

doués d'une action plus ou moins puissante sur les centres nerveux; ils produisent la somnolence, la fatigue, et quelques-unes les vomissements et la purgation, à la façon des alcaloïdes, des venins, mais sont moins actifs que les ptomaïnes.

Par quel mécanisme ces alcaloïdes se produisent-ils dans l'économie ? quelle est la conséquence de leur formation incessante ? que deviennent-ils et comment pouvons-nous échapper à leurs effets toxiques ? L'étude de cette question, dont nous allons emprunter la solution à M. A. Gautier, va nous montrer l'analogie de propriété des cellules des organismes supérieurs et des organismes unicellulaires que nous avons étudiés jusqu'à présent.

« Grâce à la respiration et à la circulation, l'oxy-
» gène semble pénétrer partout avec le sang, dans
» l'organisme animal ; il ne s'ensuit cependant pas
» que la vie animale, c'est-à-dire les phénomènes
» successifs d'assimilation et de désassimilation des
» tissus, soit entièrement aérobie.

» *Les transformations des tissus des animaux*
» *supérieurs sont au contraire aérobies dans une no-*
» *table proportion.*

» C'est là une proposition qui peut paraître para-
» doxale, mais dont j'ai trouvé, le premier, je crois,
» la démonstration expérimentale et théorique. La
» formation des ptomaïnes et leucomaïnes au sein de
» nos organes en est la conséquence.

» Prenons, pour établir par le calcul le dédouble-
» ment anaérobie d'une partie de nos tissus, l'une des
» célèbres expériences de Pettenkofer et Voit sur
» la combustion animale.

» Un chien de 33 kilogr., mis en observation,
» absorbe par jour, en oxygène:

Oxygéne emprunté à l'air par la respiration......	477 gr.
Oxygène de l'eau totale des aliments et des boissons.	1022 —
Oxygène des aliments secs........................	77 —
	1566 gr.

» D'autre part, et dans le même temps, ce chien
» fournissait en totalité, par les poumons, les urines,
» la peau et toutes ses excrétions :

Oxygène excrété, total... .... 1599 gr.

» Si l'on déduit des 1599 grammes d'oxygène
» excrétés les 1.022 grammes d'oxygène reçus par
» l'animal à l'état d'eau, et qui n'ont évidemment pas
» provoqué de combustion puisqu'ils sont entrés et
» sortis sous le même état, il reste 1599—1022=587
» grammes d'oxygène dans la totalité des excrétions
» des 24 heures. Or, le chien n'ayant reçu par l'air
» que 477 grammes d'oxygène et en excrétant 587,
» la différence 587—477=110 grammes, provient de
» la *combustion ou dédoublement autonome des ali-*
» *ments et des tissus passant à l'état d'acide carbo-*
» *nique, d'eau, d'urée, etc., sans nul apport d'oxy-*
» *gène étranger.*

» Ainsi, pour résumer, sur 587 grammes d'oxygène
» qui se trouvent dans la totalité des excrétions
» (l'oxygène de l'eau entrée et sortie étant toujours
» déduit), 477 grammes proviennent de l'air et 110
» grammes sont fournis par la matière organique
» elle-même des tissus en état de fonctionnement.

» Ce qui veut dire que les quatre cinquièmes envi-
» ron de nos combustions internes sont de véritables
» fermentations aérobies, comparables à l'oxydation
» de l'alcool sous l'influence du Mycoderma vini ou
» aceti, et qu'un cinquième de ces combustions dés-
» assimilatrices se produit aux dépens de nos tissus
» eux-mêmes, sans nul recours à l'oxygène étranger :
» en un mot, que cette partie des tissus *vit à la*
» *façon des ferments anaérobies ou putrides.*

» Si donc la vie intime de cette partie des cellules
» animales, groupées en tissus et vivant sans oxy-
» gène emprunté à l'air, est semblable, par la façon
» dont elle assimile et désassimile la matière orga-

» nique, à la vie des ferments bactériens, nous de-
» vons, dans nos produits d'excrétion, observer les
» substances mêmes qu'on retrouve dans la fermen-
» tation anaérobie des albuminoïdes, c'est-à-dire dans
» les fermentations putréfactives.

» J'ai démontré, en effet, la présence de ces alcaloïdes
» dans les urines, dans la salive, les veines, diverses
» sécrétions glandulaires ; mais je les ai particulière-
» ment étudiés dans les muscles.

» Ils existent dans le sang où ils paraissent s'ac-
» cumuler dès que, pour des raisons diverses, la
» peau, les reins, le tube digestif ne les éliminent
» plus. C'est alors qu'agissant sur les centres ner-
» veux, ils donnent lieu à une série de phénomènes
» pathologiques qui se déroulent, se succèdent dans
» un ordre nécessaire, et dont l'ensemble contribue
» à former le tableau de chaque maladie.

» Nous résistons à cette incessante auto-infection
» par deux mécanismes distincts : l'élimination du
» toxique par les urines et peut-être le tube digestif,
» et la destruction de ces poisons par l'oxygène.

» L'élimination par les urines est évidente. J'ai tou-
» jours retrouvé une petite proportion de ptomaïnes
» dans les urines normales, quantité très faible et
» que quelques-uns ont même niée, mais qui est
» bien réelle et qui devient considérable dans quel-
» ques cas pathologiques, ainsi que l'a montré
» M. Bouchard pour les maladies infectieuses, en
» particulier pour la fièvre typhoïde, et, comme vient
» aussi de l'observer M. G. Pouchet pour quelques
» maladies cérébrales sans fièvre. On avait signalé
» déjà l'augmentation notable de la créatinine au
» cours de l'urémie.

» Mais, un moyen plus puissant peut-être que
» l'élimination de ces bases, fait résister l'économie à
» l'auto-infection: c'est leur combustion par l'oxygène
» du sang. La plupart de ces poisons, en effet, sont
» fort oxydables, et c'est par l'influence vivifiante et

» sans cesse renouvelée de l'oxygène qu'ils se brûlent
» et disparaissent, du moins en grande partie. Aussi,
» à l'état normal, ne retrouvons-nous qu'une minime
» proportion des leucomaïnes musculaires dans les
» urines. Elles ont été brûlées dans le torrent circu-
» latoire, et déjà peut-être dans les tissus.

» Mais qu'une cause quelconque diminue l'accès
» de l'air jusqu'au sang, que la quantité d'hémoglo-
» bine décroisse, comme dans la chlorose ou l'ané-
» mie, ou que l'on introduise dans l'économie des
» substances entravant l'hématose, et l'on verra aus-
» sitôt s'accumuler dans nos tissus les substances
» azotées de la nature des ptomaïnes ou des leuco-
» maïnes, ou du moins celles qui leur ressemblent
» le plus, ou les accompagnent en général. »

Vers à soie atteints de la pébrine.



Fig. 49. — Partie antérieure du corps d'un ver malade, dont les taches commencent à paraître. (Grossiment de 2/1.)



Fig. 50. Partie antérieure du corps d'un ver malade, dont les taches sont complètement développees. (Même grossissement.)

Certains vibrions peuvent vivre dans le sang et les diverses humeurs de l'organisme, et causer leur altération.

Tels sont les parasites qui provoquent diverses affections internes des vers à soie, la *pébrine*, (fig. 49 à 56) ou maladies des corpuscules, qui simule sur la peau du ver un semis de poivre noir, la *muscardine* et la *flacherie*, lesquelles trouvent, chez l'être supérieur, des états tout à fait comparables.

Une goutte de sang putréfié, injectée à un animal, produit en général chez lui des accidents *septicémiques*, et le sang de cet animal, devenu plus virulent



Fig. 51. Anneau d'un ver atteint de la pébrine
et montrant les taches entourées d'une auréole. (Grossi 6 fois.)

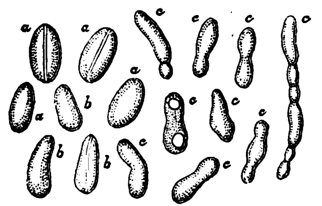


Fig. 52. Psorospermies des vers à soie, dites corpuscules vibrants, grossies 1700 fois. — *a b*, formes habituelles; *c*, formes anormales.

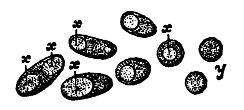


Fig. 53. Psorospermies aux différentes phases de leur évolution. — *x*, tache claire.

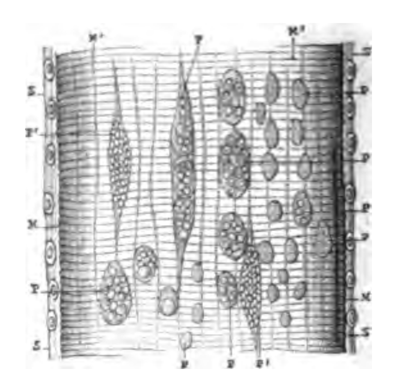


Fig. 54. Portion de l'intestin de la chenille de *Bombyx neustria ;* P, masses de matières psorospermiques dans lesquelles les psorospermies commencent à se former ; P', amas de psorospermies à l'état parfait ; S, enveloppe séreuse de l'intestin ; M et M', couches de fibres musculaires.

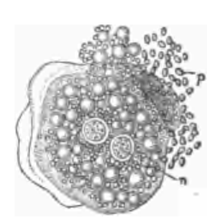


Fig. 55. Psorospermies *p* dans l'intérieur de cellules vitellines.

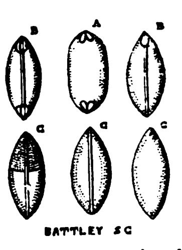


Fig. 56. Psorospermies d'un papillon de la pyrole (*Tortrix viridana*) grossies 1500 fois. — A, vues de face ; B, vues de profil ; C, après traitement par l'eau salée.

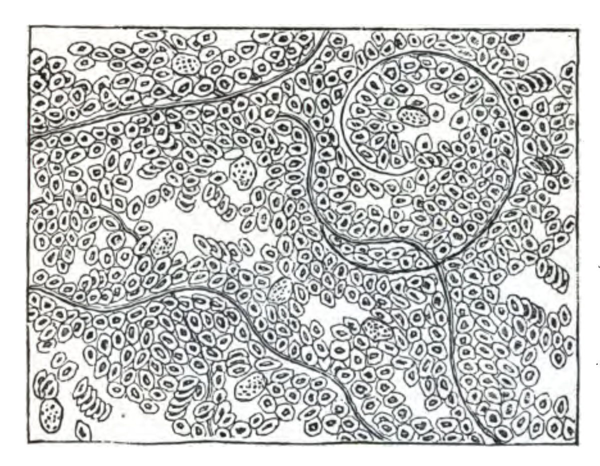


Fig. 57. Vibrion septique dans le sang à l'état de développement complet. Représentation schématique (Doléris).



Fig. 58. 1, bactéries septiques sous diverses formes; 2, zooglée; 3, chapelets de micrococcus en couples développés dans le pus d un vaisseau lymphatique (Doléris).

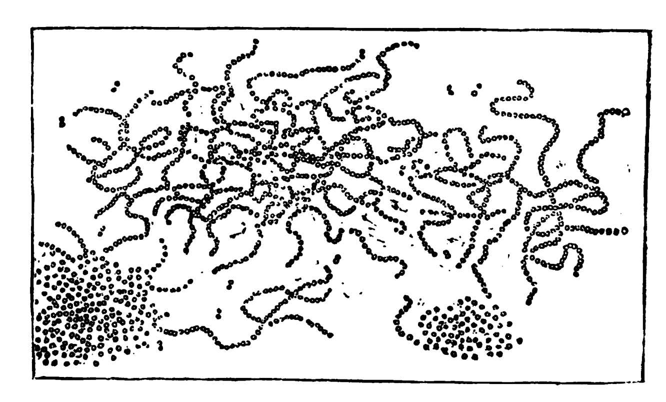


Fig. 59. Chapelets de vibrion septique obtenu pur par la culture au sang. (Doléris).



Fig. 60. Bacilles de la fièvre typhoïde. (Cornil et Babès.)

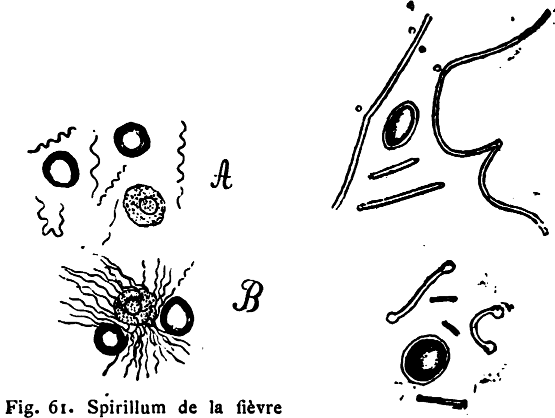


Fig. 61. Spirillum de la fièvre recurrente. (Spriochette, Obermeieri.)

Fig. 62. Bacilles de la malaria.

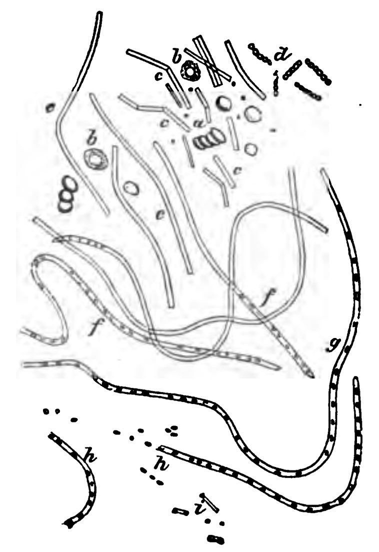


Fig. 63. Bactéridies du charbon. Grossissement, 500 : 1. — *a*, globules rouges; *b*, globules blancs; *c*, bacilles entre ces globules; *d*, bacilles morts; *e*, *f*, *g*, fibres représentant les bacilles développés et renfermant des spores; *i*, spores en voie de développement.

encore que celui du premier sujet, renferme une foule de vibrioniens qui ont été reconnus par MM. Coze et Feltz, Davaine, Chantreuil, Bergmann, tandis que Chauveau, Chantreuil et Hüter observèrent, dans les leucocytes du sang infecté, une foule de granulations analogues à celles que l'on trouve en nombre infini dans les liqueurs putrides (fig. 57 à 59).

Les accidents de la *pyohémie* ou *résorption purulente*, paraissent aussi probablement dus à la putréfaction du sang par des causes analogues.

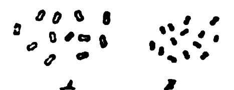


Fig. 64. Microbes du choléra des poules. 500 : 1. (Pasteur.)
A, culture fraîche; B, culture datant de plusieurs jours.

Il en est également de même d'autres maladies, comme la fièvre typhoïde (fig. 60), la fièvre récurrente (fig. 61), la malaria (fig. 62), le sang de rate ou charbon des ruminants (fig. 63), le choléra des poules (fig. 64), etc., dues à l'infection de l'organisme par des parasites unicellulaires, et dans lesquelles le sang, profondément altéré par ce parasite, devient un terrain éminemment favorable aux vibrions anaérobies de la putréfaction.

Malheureusement la chimie est encore pauvre en faits et en résultats, dans ce domaine où la physiologie seule des maladies est à peu près connue, et où l'étude des transformations des matériaux azotés attend encore sa solution.

§ 7. — *Causes qui peuvent influencer la putréfaction.*

Les causes qui peuvent influencer la putréfaction peuvent être classées, au point de vue de leur application pratique, en deux groupes :

1° *Moyens physiques de détruire les germes;*

2° *Antiseptiques*, qu'il ne faut pas confondre avec les *désinfectants.*

1°. *Moyens physiques de destruction des germes.* — a. *Froid.* — Nous avons vu que les substances organiques sont indéfiniment préservées de la putréfaction par une température inférieure à 0°.

Le froid ne tue cependant pas d'ordinaire les germes, même à des températures très basses, —45° par exemple; il ne semble pas davantage produire sur eux les phénomènes d'atténuation que nous allons étudier à propos de la chaleur; il immobilise seulement les germes.

Quoi qu'il en soit, l'emploi du froid tend à se répandre pour préserver certaines matières organiques de la putréfaction; on se sert de plus en plus des appareils producteurs du froid au moyen du vide, de l'acide sulfureux ou de l'ammoniaque, pour la conservation des viandes d'Amérique à bord des bateaux qui les transportent en Europe (1).

Des installations analogues existent aujourd'hui dans certaines grandes villes, à Mulhouse par exemple, où leur annexion aux abattoirs assure la conservation de la viande pendant les chaleurs de l'été.

b. Chaleur. — La pratique a démontré que l'action d'une température sèche de 140°, prolongée pendant cinq minutes, est suffisante comme moyen de stérilisation des corps solides.

(1) Voy. Dumesnil, *Des différents procédés de conservation des viandes, leurs avantages et leurs inconvénients.* (*Ann. d'hyg.* 1874, 2e série, t. XLII).

Dans la pratique de la désinfection des vêtements et de la literie, en cas de maladies contagieuses, on peut l'abaisser, à condition de prolonger la durée d'exposition ; une exposition d'une heure à 125° peut suffire pour tuer les germes des vêtements et de la literie.

La chaleur humide est plus active que la chaleur sèche; une exposition de dix à quinze minutes à la température de 100 à 105°, lorsque la chaleur est humide, et fournie par de la vapeur d'eau surchauffée. stérilise complètement les tissus ; mais ceux-ci sortent mouillés de l'étuve, et exigent une dessication ultérieure.

Des étuves à désinfection, montées sur roues et alimentées par la vapeur d'une locomobile, permettent de les conduire aux divers endroits d'une localité où sévit une épidémie, de façon à éviter la propagation des germes par le transport des vêtements à traiter jusqu'à une étuve centrale et fixe (1).

Le procédé de la chaleur humide constitue la base de la méthode Appert pour la conservation des substances alimentaires. La substance est introduite dans un vase en verre ou en fer-blanc qu'on chauffe ensuite au bain-marie à 100°, ou un peu au-dessus, dans un bain de chlorure de calcium; le vase a été bien fermé au préalable, ou, pour plus de sûreté, n'est fermé que quand l'air a été chassé à peu près complètement par la vapeur d'eau.

La chaleur a été également préconisée par M. Pasteur pour assurer la conservation des vins; dans le cas particulier, la présence des éléments salins et surtout de l'alcool permet d'abaisser notablement la température à laquelle doit être porté le liquide ; le chauffage des vins se fait à 55-60°, soit en bouteilles, (fig. 65) soit en tonneaux ; on se sert ordinairement d'un appareil de chauffage, au travers duquel on fait circuler le vin, et d'où on le ramène dans un autre tonneau de conserve.

(1) Voyez *Annales d'Hygiène*, 1886, tome XV, p. 536.

On peut aussi laisser le vin dans une bonbonne en verre exposée aux rayons calorifiques du soleil; ces rayons passent au travers du verre, et dès les premiers jours, élèvent la température intérieure jusqu'à 55-60° et au-dessus.

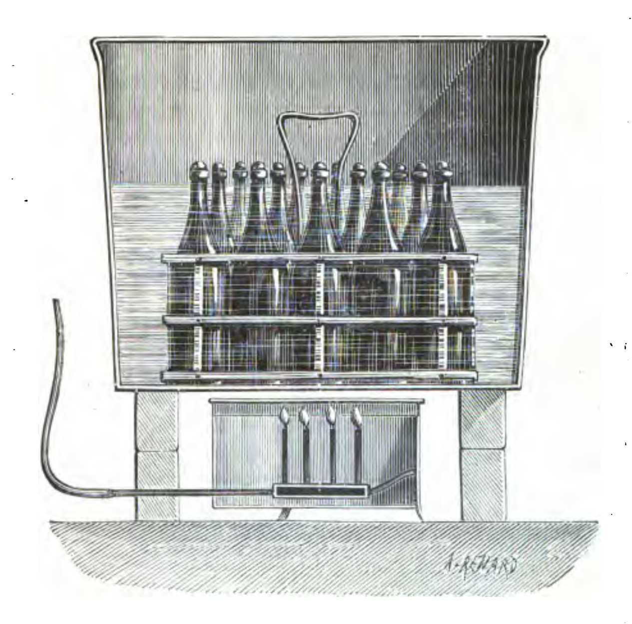


Fig. 65. Appareil pour le chauffage des vins en bouteille.

Il résulte des expériences de MM. Toussaint et Chauveau que le sang charbonneux chauffé quelques minutes à 50° est atténué comme par les cultures à 42°-43°, et rien ne prouve qu'il n'en soit pas de même des autres ferments.

En tout cas, on retrouve toujours une loi de variation inverse entre la durée du chauffage et son

intensité, à propos de l'atténuation des microbes comme pour leur destruction.

c. *Dessication.* — La vie des ferments exige absolument une certaine quantité d'eau ; elle est impossible aussi bien sur les corps parfaitement desséchés (mousse, foin, viande et légumes secs) que dans des liqueurs devant à une concentration suffisante des propriétés exosmotiques assez puissantes pour modifier la constitution des liquides cellulaires (extraits, confitures, sirops, laits concentrés) ; mais le degré d'humidité dont se contentent les microbes est variable de l'un à l'autre.

La dessiccation des matières organiques est fréquemment utilisée dans l'industrie; cette dessiccation peut être accélérée sans recourir à une température bien élevée, par l'action concomitante de la compression (1).

Ainsi, le procédé Masson, pour la conservation des légumes, consiste à les priver d'eau par l'action combinée d'une température de 35° et de la compression.

2° *Antiseptiques.* — On donne le nom d'*antiseptiques* aux substances qui ont la propriété d'empêcher les fermentations de se produire.

Ces substances sont nombreuses ; mais leur classification rationnelle est impossible, à cause de l'ignorance où l'on se trouve du mécanisme, variable de l'un à l'autre, de leur manière d'agir, ce qui ne permet aucune comparaison.

Nous citerons :

L'acide acétique ou le vinaigre,

L'acétate d'alumine, employé par Gannal sous forme d'injections pour l'embaumement et la conservation des cadavres,

L'acide arsénieux et ses dérivés,

L'acide nitrique ou les cristaux de chambre de

(1) Voyez Heraud, *les Secrets de la Science et de l'Industrie*, Paris, 1888, 1 vol. in-16 (*Bibliothèque des connaissances utiles*).

plomb décomposés par un acide, qui agissent comme oxydants énergiques (fumigations d'acide azotique de Smith, emploi des cristaux de chambres de plomb par Girard et Pabst),

L'acide benzoïque et les benzoates, qui sont des antiseptiques plus actifs que l'acide salicylique et le phénol,

L'acide borique et le borax qui fait la base du *sel de conserve* accepté par le Comité consultatif d'hygiène pour la conservation de denrées alimentaires, bien que, malgré les certificats d'innocuité que lui ont délivrés MM. Capelli, Guyon et Guéneau de Mussy, il doive à la longue exercer sur les organes des animaux supérieurs une action plus ou moins analogue à celle qu'il possède à l'égard des microbes,

L'acide cyanhydrique, préconisé par M. A. Gautier,

L'alcool,

Le chloral qui n'agit qu'à dose assez élevée (jusqu'à 4 et 10 o/o) et peut-être en formant avec le contenu des cellules des infiniment petits qu'il coagule des composés imputrescibles analogues à celui qu'il forme avec l'albumine et le contenu du sarcolemme (Personne),

L'éther nitreux, dont l'action antiseptique et désinfectante est analogue à celle de l'ozone (Peyrusson),

La glycérine,

Le chlore,

Le brôme,

L'iode,

Les chlorures décolorants qui agissent comme source de chlore,

Les fumigations d'acide chlorhydrique produit par la réaction de l'acide sulfurique sur le sel marin (Guyton de Morveau), ou de chlore obtenu avec les mêmes produits additionnés de bioxyde de manganèse (Dizé, Cruikshank),

Le chloroforme, qui agit comme anesthésique

sans tuer les cellules vivantes, mais respecte assez bien les diastases (Müntz),

Certaines essences, de thym, d'eucalyptus globulus, de Wintergreen,

La créosote qui se trouve dans la fumée du bois (aliments fumés),

Les sels d'alumine,

Les sels de fer,

Le chromate, le bichromate et le permanganate de potasse, qui oxydent énergiquement et détruisent les microbes, mais aussi les tissus qu'on veut désinfecter:

L'iodoforme, de plus en plus employé dans les pansements antiseptiques,

Les sels de mercure et en particulier le sublimé corrosif, qui est un des plus puissants antiseptiques;

L'oxygène, sous forme d'eau oxygénée, étudié par MM. P. Bert (1) et P. Regnard;

L'ozone, agent très actif de désinfection à l'égard des poussières atmosphériques (M. Chappuis);

L'acide phénique, un des premiers antiseptiques employés et sur lequel est basée la méthode de pansement de Lister, aujourd'hui universellement répandue dans le monde chirurgical et qui a considérablement diminué la mortalité par infection purulente dans les grandes opérations chirurgicales (2);

L'acide orthonyphenylsulfureux, sulfocarbol de Vigier, aseptol de Gautelet,

Le thymol,

L'acide picrique, qui agit encore peut-être en coagulant le protoplasma des cellules,

La résorcine,

Le sel marin,

L'acide salicylique, préconisé pour la conservation des substances alimentaires, mais traqué du

(1) Paul Bert, *Leçons sur la Physiologie comparée de la respiration*. Paris 1870.

(2) Voy. Watson Cheyne, *la Méthode antiseptique*, (*Encyclopédie internationale de chirurgie*. Paris, 1888, tome II, p. 277.

moins en France par les bureaux d'hygiène et les laboratoires municipaux (1);

L'aldehyde salicylique, plus active que le précédent,

Le salol ou salicylate de phényle,

L'acide sulfurique, dont les propriétés antiseptiques sont dues, comme pour l'acide chlorhydrique, à ses propriétés acides;

L'acide sulfureux en fumigations obtenues par la combustion du soufre ou du sulfure de carbone (lampe de Chiandi-bey);

Le tannin,

Les sels de zinc, et surtout le chlorure, très actif, peu coûteux et moins toxique que le sublimé corrosif.

L'action préservatrice de l'huile, de la graisse, des cendres, et en général des corps inertes pulvérulents, tels que : sable fin, sciure de bois, etc., des enduits de paraffine ou de gélatine, est due à ce que ces corps poreux ou imperméables retiennent à leur surface les germes de l'atmosphère, comme le coton cardé dans l'expérience de Schrœder et le pansement ouaté de Lister.

Les *désinfectants* détruisent les produits infects et surtout les gaz de la putréfaction;

Les uns les oxydent, comme le chlore, les hypochlorites, le permanganate de potasse;

Les autres les absorbent, comme le charbon et certaines poudres désinfectantes (2).

(1) Dubrisay, *la Conservation des substances alimentaires par l'acide salicylique* (*Annales d'Hygiène*, 1881, tome V, p. 424).

(2) Voyez Z. Roussin, article DÉSINFECTANTS du *Nouveau Dictionnaire de médecine et de chirurgie pratiques,* sous la direction du Dr Jaccoud. Paris, 1872, tome XI, p. 224. — Heraud, *les Secrets de l'Économie domestique,* Paris, 1888, 1 vol. in-16 (*Bibliothèque des Connaissances utiles*).

FIN



TABLE DES MATIERES

III

MOISISSURES

IV

FERMENTATION ALCOOLIQUE

V

BACTÉRIES

VI

FERMENTATIONS PAR HYDRATATION

VII

FERMENTATIONS PAR DÉDOUBLEMENT

VIII

FERMENTATIONS PAR RÉDUCTION

IX

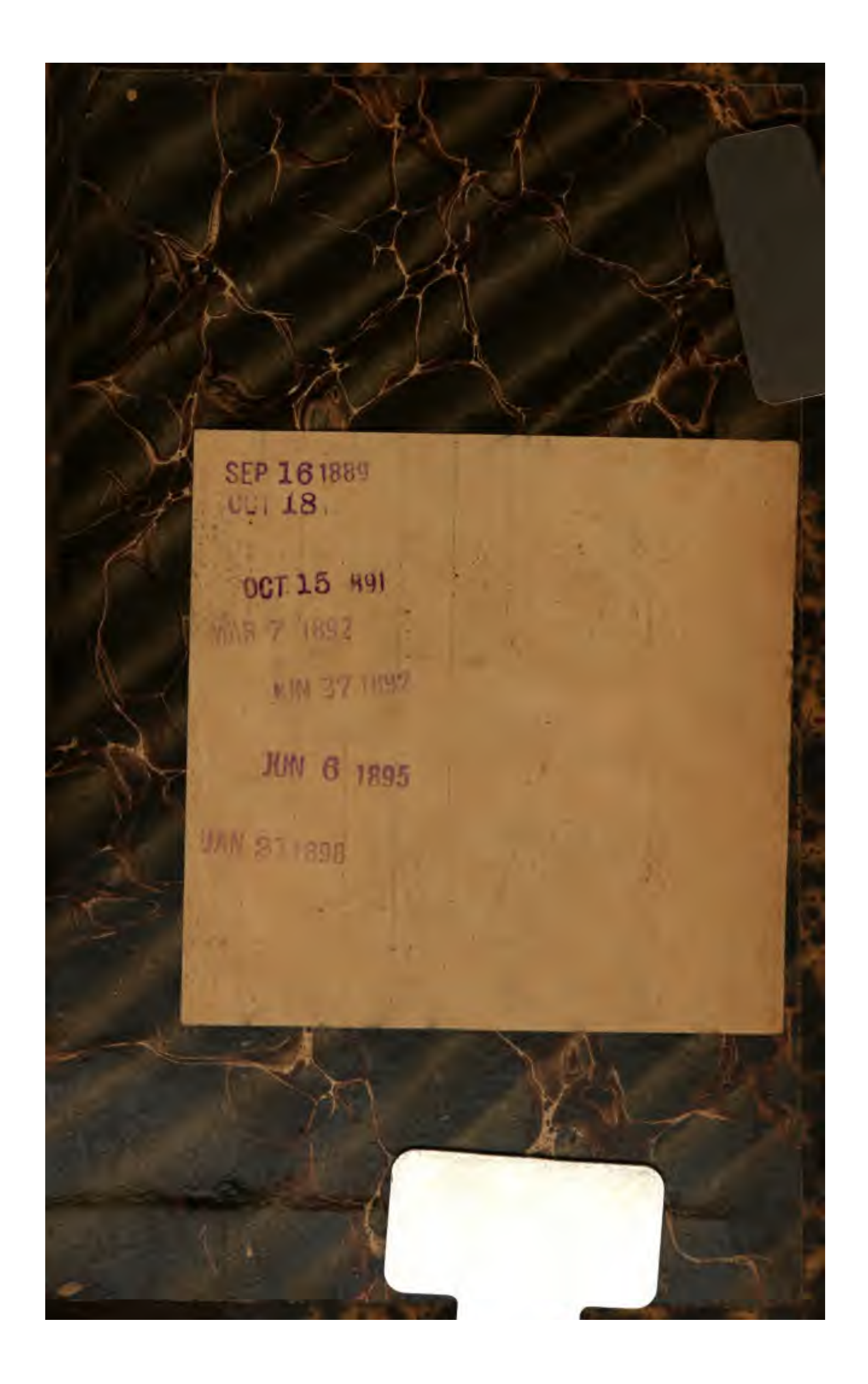
FERMENTATIONS PAR OXYDATION

X

FERMENTATIONS DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES

TABLE DES FIGURES




SEP 16 1889
OCT 18
OCT 15 891
MAR 7 1892
JUN 6 1895

